

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO

GRUPOS SOCIAIS E REPRODUÇÃO COOPERATIVA EM *Vanellus chilensis*

RICARDO AUGUSTO SERPA CERBONCINI

CURITIBA

2016

RICARDO AUGUSTO SERPA CERBONCINI

GRUPOS SOCIAIS E REPRODUÇÃO COOPERATIVA EM *Vanellus chilensis*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ecologia e Conservação.

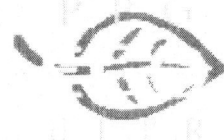
Orientador: Dr. Fernando de Camargo Passos

CURITIBA

2016



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO



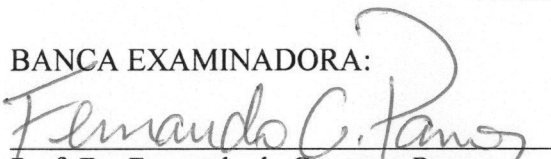
PARECER

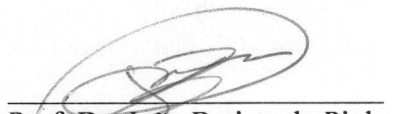
Os abaixo-assinados, membros da banca examinadora da defesa da tese, a que se submeteu **Ricardo Augusto Serpa Cerboncini** para fins de adquirir o título de Doutor em Ecologia e Conservação, são de parecer favorável à **APROVAÇÃO** do trabalho de conclusão do candidato.

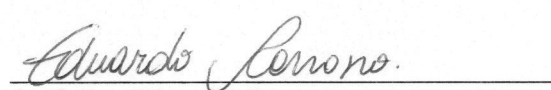
Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação.

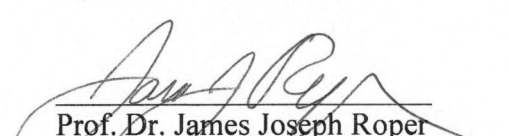
Curitiba, 25 de fevereiro de 2016.

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Fernando de Camargo Passos
Orientador e Presidente


Prof. Dr. João Batista de Pinho
Membro


Prof. Dr. Eduardo Carrano
Membro


Prof. Dr. James Joseph Roper
Membro


Prof. Dra. Lilian Tonelli Manica
Membro


Prof. Dra. Isabela Galarda Varassin
Coordenadora do PPG-ECO



AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Fernando Passos pela orientação neste trabalho de tese de doutorado, incentivo e confiança depositada no meu trabalho, e pela oportunidade de estar sempre aprendendo um pouco a mais.

À Talita Braga pela colaboração no desenvolvimento de ideias, participação nas atividades de campo e no desenvolvimento dos trabalhos científicos, e por toda convivência e companheirismo.

Ao Prof. James Roper pelas sugestões, opiniões e colaboração com as atividades desenvolvidas durante este estudo.

Aos amigos do Laboratório de Biodiversidade, Conservação e Ecologia de Animais Silvestres (LABCEAS) pelo auxílio nas atividades de campo e de laboratório.

Aos Prof. Walter Boeger e Valéria Muschner pelas opiniões e sugestões a respeito dos procedimentos moleculares.

À Dra. Paula Borges, Prof. Márcio Pie e aos colegas usuários do Laboratório de Biologia Molecular Profa. Danúncia Urban, onde os procedimentos em biologia molecular foram desenvolvidos.

Ao PPGECO – Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal do Paraná. À coordenação, secretaria, professores e colegas de curso.

Ao Prof. Thomas Martin e integrantes de seu laboratório e à University of Montana por me receberem para o período de doutorado sanduíche no exterior, e pelas sugestões e críticas ao projeto referente a este estudo.

Ao Prof. Fernando Cavichioli e ao Centro de Educação Física e Desportos (CED) da UFPR, e ao Sr. Francisco Forte, Sra. Rocio Luz, e à Federação das Indústrias do Estado do Paraná (FIEP) por autorizarem este estudo nas áreas de suas dependências. Aos vigilantes da UFPR e da FIEP que sempre foram muito prestativos durante o desenvolvimento das atividades de campo.

Ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) pela licença de pesquisa científica e ao Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Aves Silvestres (CEMAVE) pela autorização de anilhamento das aves.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de doutorado e de doutorado sanduíche para o desenvolvimento deste estudo.

À Fundação Araucária pelo apoio financeiro concedido ao projeto referente a este doutorado.

Aos meus pais pelo incentivo e por estarem sempre dispostos a ajudar no que foi preciso durante o período do meu doutorado.

Sumário

RESUMO	1
ABSTRACT	2
PRÓLOGO	3
CAPÍTULO I – How to capture breeding Southern Lapwing <i>Vanellus chilensis</i>	6
Resumo.....	7
Abstract	8
Introduction	8
Methods.....	9
Results	9
Discussion	10
Acknowledgements	11
References	11
CAPÍTULO II – Composição de grupos sociais e razão sexual no quero-quero <i>Vanellus chilensis</i> ..	12
Resumo.....	13
Introdução	14
Material e Métodos	16
Área de estudo	16
Captura, marcação e monitoramento	17
Sexagem e razões sexuais	18
Análise de dados.....	19
Resultados	19
Discussão.....	23
Agradecimentos.....	26
Referências	27

CAPÍTULO III – Does parental conflict dictate cooperative breeding in the Southern Lapwing <i>Vanellus chilensis</i>?	31
Abstract	32
Introduction	33
Material and Methods	35
Study site	35
Capture and marking	35
Monitoring.....	36
Growth.....	37
Survival.....	37
Parental care	38
Results	40
Growth and survival	40
Parental care	42
Discussion	47
Acknowledgements	49
References	50
 EPÍLOGO	 54

RESUMO

A reprodução cooperativa ocorre quando mais de dois indivíduos cuidam de uma mesma prole. Esse tipo de comportamento desafia a teoria de seleção natural pelo fato da existência de indivíduos que investem na reprodução de outros em detrimento de sua própria reprodução. O quero quero (*Vanellus chilensis*) é uma espécie com reprodução cooperativa facultativa, em que são encontrados territórios reprodutivos com casais e com grupos sociais compostos por três ou quatro indivíduos. Neste trabalho, primeiramente foi desenvolvido um método eficiente para a captura da espécie, o que possibilitou o estudo em nível populacional. Em seguida, foi determinada a composição dos grupos sociais e se a razão sexual na população é relacionada com o modo de cuidado parental e o sexo dos ajudantes de ninho. Finalmente, o investimento nas atividades de cuidado parental foi comparado entre os indivíduos, quando reproduzindo em casal e em cooperação, e foi testado se o sucesso reprodutivo depende do modo de cuidado parental. Os resultados indicaram que os grupos sociais são formados por um casal reprodutor e um filhote da estação reprodutiva anterior que atrasa a dispersão e participa como ajudante de ninho na estação reprodutiva seguinte. Ambos os sexos participam como ajudantes de ninho, mas a participação dos machos foi mais frequente que das fêmeas. A razão sexual primária foi desviada para fêmeas apenas em casais, enquanto grupos sociais produziram fêmeas e machos em número semelhante. O modo de cuidado parental foi modificado entre ciclos reprodutivos distintos em alguns territórios monitorados. A sobrevivência e o crescimento dos filhotes foram semelhantes entre casais e grupos sociais. A atenção ao ninho não foi maior com a participação de ajudantes de ninho. O investimento dos ajudantes de ninho nas atividades de cuidado parental foi baixo e diminuiu ao longo do tempo. Nos grupos sociais as fêmeas não diminuíram a atenção ao ninho, enquanto os machos diminuíram cerca de 10% do seu investimento. Nos casais, a atenção ao ninho dos machos e das fêmeas foram semelhantes e tiveram uma relação inversa, enquanto os machos diminuíram a atenção ao ninho ao longo do tempo as fêmeas aumentaram. Nos grupos sociais, a atenção ao ninho dos machos foi menor que das fêmeas e que dos machos em cuidado biparental, mas aumentaram a atenção ao ninho ao longo do tempo. Esses resultados mostraram que os ajudantes de ninho modificaram a resolução do conflito parental entre o casal reprodutor. A similaridade no sucesso reprodutivo de casais e grupos sociais e o baixo investimento do ajudante de ninho nas atividades de cuidado parental sugerem que a reprodução cooperativa em *V. chilensis* não deve ser relacionada com a seleção de parentesco. Como a competição por aquisição de territórios é intensa na espécie, é sugerido que os ajudantes de ninho são beneficiados na sua aptidão direta por permanecerem no território natal.

Palavras-chave: ajudantes de ninho, Charadriidae, cuidado parental, razão sexual, seleção de parentesco

ABSTRACT

Cooperatively breeding birds share parental care activities of a single brood in more than two individuals. This behavior challenges natural selection due to individuals that invest in fitness of others. The Southern Lapwing (*Vanellus chilensis*) is a facultative cooperative breeder with pairs that reproduce in biparental care and social groups with three or four individuals. First, we developed an efficient method to capture lapwings, which allowed to study them at the population level. Then, we determined the social structure of groups and if sex ratios are related to the mode of parental care and to the sex of the helper. Finally, we compared the investment in parental care activities and offspring growth and survival between modes of parental care. The results indicated that social groups were composed by a breeding pair and the young from previous breeding seasons. Both sexes participated as helpers-at-the-nest, but males more often than females. Primary sex ratios were female biased only in pairs, while no biases were detected in social groups. The mode of parental care changed between breeding seasons in a few territories. Offspring growth and survival and nest attentiveness were similar in pairs and social groups. Nest attentiveness of helpers was low and decreased over time. Incubation by females in pairs and groups were similar, while by males was 10% reduced in groups. Incubation by males and females in biparental care were similar, but males reduced over time, while females increased it. In social groups, incubation by males was less often than by females and by males in pairs, but increased over time. These results showed that the presence of the helper changed how breeders resolve conflicts over care. Reproductive success was similar between pairs and groups and helpers invested little in parental care activities. The results indicate that cooperative breeding in the Southern Lapwing may not be related to kin selection, suggesting that helpers may benefit directly by avoiding competition in territory acquisition.

Key-words: helpers-at-the-nest, Charadriidae, parental care, sex ratio, kin selection

PRÓLOGO

A cooperação é frequentemente considerada um desafio à teoria de seleção natural devido ao fato de indivíduos investirem na sobrevivência e reprodução de outros aos seus próprios custos (Darwin, 1859). As principais explicações para a existência de comportamentos altruístas estão baseadas na relação entre os custos e os benefícios na aptidão dos indivíduos e sua relação com as unidades de seleção. A teoria da aptidão inclusiva é a que possui maior destaque na literatura sobre evolução da cooperação. Segundo essa teoria a aptidão de um indivíduo não está apenas relacionada ao seu próprio sucesso reprodutivo e à sua sobrevivência (aptidão direta), mas também à aptidão de seus parentes (aptidão indireta; Hamilton, 1964). Dessa forma, o investimento na sobrevivência e sucesso reprodutivo de outros indivíduos pode ser selecionado desde que os benefícios do comportamento altruísta sejam maiores do que os custos, a seleção de parentesco. Outra maneira de explicar a evolução do comportamento altruísta é considerar que as unidades de seleção podem ocorrer em níveis acima de indivíduos, como na teoria da seleção de grupos. Essa teoria propõe que a maior intensidade de competição entre grupos em relação à competição entre indivíduos dentro de cada grupo favorece a seleção da cooperação entre os indivíduos dentro dos grupos (Wilson, 1975; Nowak et al., 2010). Por outro lado, a cooperação não incorre necessariamente em custos para apenas um dos indivíduos, e pode surgir a partir da relação recíproca entre os indivíduos (Axelrod & Hamilton, 1981). Neste caso, a cooperação pode garantir o aumento da aptidão direta de todos os indivíduos cooperantes. De qualquer maneira, para que a cooperação seja selecionada a mesma deve resultar em aumento da sobrevivência e sucesso reprodutivo de ao menos alguns indivíduos dentro do grupo cooperativo.

As diferentes teorias sobre a evolução da cooperação possuem pontos de vista distintos sobre as unidades de seleção. A teoria de seleção de parentesco propõe que a unidade de seleção ocorre em níveis genéticos, e em última estância as interações entre genes que

ocorrem em um mesmo indivíduo ou genoma (Dawkins, 1976). Enquanto a seleção de grupo propõe que a unidade de seleção pode ocorrer em nível de grupo de indivíduos, espécies, ou mesmo níveis de comunidades ou ecossistemas (Wilson, 2013). Apesar dessas diferenças, as duas teorias partem do pressuposto de que a determinação do comportamento cooperativo, ou altruísta, ocorre devido a diferenças genéticas e é facilitada pela intensificação das interações comportamentais entre os indivíduos aparentados. Por outro lado, recentemente, a determinação genética das diferenças entre os comportamentos altruístas e egoístas foi posta em cheque, pois informações provenientes de espécies cooperativas indicam que o comportamento altruísta é definido por um efeito ambiental a partir de genótipos similares aos egoístas. Portanto, não existe competição alélica entre os comportamentos altruístas e egoístas em uma população, e sendo assim não há paradoxo no altruísmo (Yakubu, 2013).

Determinar de que maneira os diferentes tipos de organismos apresentam seus sistemas sociais é fundamental para entender as rotas da evolução da cooperação. O objetivo deste trabalho de tese foi determinar o sistema social de grupos cooperativos no quero-quero *Vanellus chilensis*, uma espécie de ave com reprodução cooperativa facultativa em que casais e grupos cooperativos, formados por três ou quatro indivíduos, podem ser encontrados (Walters & Walters, 1980). No capítulo I foram desenvolvidos e descritos métodos eficientes para captura e monitoramento da espécie, o que possibilitou a coleta de informações a respeito da formação dos grupos cooperativos e do investimento nas atividades de cuidado parental pelos. No capítulo II foi descrita a composição dos grupos cooperativos com ênfase na relação das razões sexuais na população com o sexo dos ajudantes. No capítulo III foi testado se o ajudante presente nos grupos cooperativos proporciona benefícios na aptidão dos reprodutores, através da diminuição do esforço parental dos reprodutores e aumento do sucesso reprodutivo.

Referencias

- Axelrod, R. & Hamilton, W.D. 1981. The evolution of cooperation. *Science*, 27: 1390-1396.
- Darwin, C. 1859. On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favored races in the struggle for life. John Murray.
- Dawkins, R. 1976. The selfish gene. Oxford University Press.
- Hamilton, W.D. 1964. The genetical evolution of social behavior. *J. Theoret. Biol.*, 7: 1-52.
- Nowak, M.A.; Tarnita, C.E. & Wilson, E.O. 2010. The evolution of eusociality. *Nature*, 466: 1057-1062.
- Walters, J. & Walters, B.F. 1980. Co-operative breeding by southern lapwings *Vanellus chilensis*. *Ibis*, 122: 505-509.
- Wilson, D.S. 1975. A theory of group selection. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 72: 143-146.
- Wilson, E.O. 2013. The social conquest of earth. Liveright Publishing Corporation.
- Yakubu, Y. 2013. The altruism paradox: a consequence of mistaken genetic modelling. *Biological Theory*, 8:103-113.

CAPÍTULO I

How to capture breeding Southern Lapwing *Vanellus chilensis*

Artigo científico publicado na Revista Brasileira de Ornitologia.

Referência: Cerboncini, R.A.S., Braga, T.V., Roper, J.J. & Passos, F.C. 2015. How to capture breeding Southern Lapwing *Vanellus chilensis*. Revista Brasileira de Ornitologia, 23(1): 1-4.

Resumo

O quero-quero (*Vanellus chilensis*) é uma ave comum na América do Sul e frequentemente encontrada em áreas agrícolas e urbanas. A espécie possui reprodução cooperativa facultativa e defende agressivamente o território reprodutivo. Por essas razões, seu comportamento, sistema de reprodução e as consequências para o sucesso reprodutivo são de interesse para a biologia evolutiva. No entanto, capturá-lo é uma tarefa difícil. A maioria dos estudos com a espécie até hoje não tiveram captura e marcação de indivíduos o que impossibilita o entendimento do papel desempenhado pelos indivíduos nas atividades de cuidado parental. O objetivo deste estudo é descrever métodos eficientes para capturar o quero-quero durante o ciclo reprodutivo, utilizando redes de neblina durante à noite. Antes da eclosão dos ovos, as redes foram colocadas dentro dos territórios reprodutivos e, a partir da perseguição das aves por caminhar em suas direções, as aves foram direcionadas às redes e capturadas quando alçavam voo em fuga. Após a eclosão dos ovos, os filhotes foram capturados manualmente e colocados próximos às redes para atrair os adultos, que foram capturados enquanto tentavam defendê-los. Foram capturados 78 indivíduos adultos de quero-quero utilizando estes métodos durante os ciclos reprodutivos de 2012 e 2013. Nenhum ninho ou território foi abandonado após a captura. Os métodos empregados podem ser úteis para captura de quero-queros em diversas situações e podem contribuir para o desenvolvimento de estudos de monitoramento de populações de longo prazo.

Palavras-chave: aves limnícolas, Charadriidae, defesa parental, métodos, rede de neblina.

How to capture breeding Southern Lapwing *Vanellus chilensis*

Ricardo A. S. Cerboncini^{1,2}, Talita V. Braga^{1,4}, James J. Roper^{1,3} and Fernando C. Passos^{1,2}

¹ Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, CEP 81531-970, Curitiba, PR, Brazil.

² Laboratório de Biodiversidade, Conservação e Ecologia de Animais Silvestres, Departamento de Zoologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, CEP 81531-970, Curitiba, PR, Brazil.

³ Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ecossistemas, Universidade de Vila Velha, CEP 29102-920, Vila Velha, ES, Brazil.

⁴ Corresponding author: talitavbr@gmail.com

Received on 15 June 2014. Accepted on 6 April 2015.

ABSTRACT: The Southern Lapwing (*Vanellus chilensis*) is a common bird in Southern America and commonly found in any large open areas, including agriculture and urban. The lapwing is a facultative cooperative breeder and aggressively defends its breeding territory. Thus, the breeding system and their consequences for reproductive success are interesting for evolutionary biology. Capture of the lapwing, however, is difficult. Most studies to date have not captured or individually marked birds even though identifying individuals to examine their roles in the breeding units is essential for understanding group evolution and interactions. Here we describe ways to efficiently capture the Southern Lapwing during the breeding season using mist-nets at night and by taking advantage of their defensive behaviors. Before hatching, nets were placed inside the breeding territories and by strategically walking towards the birds they were guided towards the nets, in which they fell when taking flight. After hatching, we captured the young birds and held them near the nets in which the adults fell when defending them. By using these methods, we captured 78 birds during the 2012 and 2013 breeding seasons. We observed no nest nor territory abandonment after captures. We suggest that our methods are useful in most situations with lapwings and better capture and marking will contribute to developing long-term population monitoring.

KEYWORDS: Charadriidae, methods, mist-net, parental defense, shorebird.

INTRODUCTION

Understanding population dynamics, breeding behaviors and many other aspects of biology in many animals and especially birds requires their capture to uniquely mark each individual. Capturing, marking and recapturing some species of birds are relatively easy, and extremely difficult for others (Martin 1969, Braga *et al.* 2014). Some birds also remember conditions of their captures and avoid them in the future (Marzluff *et al.* 2010). The Southern Lapwing *Vanellus chilensis* (Molina, 1782) (Charadriiformes: Charadriidae) is very widespread in South America and much less common elsewhere (Martin 1997, Sánchez *et al.* 1998, Abrego 2012). Capturing this shorebird is extremely difficult. As birds of open areas, they apparently see and avoid nets. They are very defensive and, if they recognize a person as a threat, often attack the person (Costa 2002, *pers. obs.*). Finally, when one bird vocalizes it gathers the attention of other birds nearby and can alert them to potential captures and they seem to remember, often for extended periods of time, their capturer (*pers. obs.*).

The Southern Lapwing lives and nests on the ground in open areas and has become accustomed to urban areas (Sick 1997). Breeders can often use the same breeding territory in consecutive breeding seasons (Saracura 2003, *pers. obs.*). Lapwings are cooperative breeders with a flexible reproductive system, the details of which are still poorly known but may include pairs or cooperative breeding groups with three or four individuals (Walters & Walters 1980, Walters 1982, Saracura *et al.* 2008, Santos & Macedo 2011). Thus, understanding dynamics of lapwing breeding groups can provide information for understanding breeding system evolution (Costa 2002, Macedo 2008, Maruyama *et al.* 2010). Additionally, their study can inform wildlife management strategies (lapwings often use airports and may interfere with flights; Nascimento *et al.* 2005, Guedes *et al.* 2010).

Previous studies of behavioral and reproductive ecology of this common species relied on simple observations, without capturing and marking (Walters & Walters 1980, Walters 1982, Gallegos Luque 1984, Costa 2002, Maruyama *et al.* 2010). Only one study described

capturing birds by using fall traps and nylon nooses near the nest (Saracura *et al.* 2008). However, they were unable to capture all birds in any family group and only captured a fraction of the total number of birds under study. Here, we describe how we captured all members of breeding units of the Southern Lapwing during the breeding season by using mist-nets at night.

METHODS

Study site

As part of a reproductive behavioral study underway, we captured the Southern Lapwing in the city of Curitiba (49°14' W, 25°27' S), state of Paraná, southern Brazil. During the 2012 breeding season (August – December) we captured on a campus of the Federal University of Paraná, and during 2013 breeding season (November 2013 – January 2014) on a campus of the Federation of Industries of Paraná (FIEP). The study site includes buildings, grassy lawns (including sports fields that are used for nesting), streets lined with trees and small patches of native forest.

Directed capture before hatching

During the breeding season and upon recognizing a breeding territory, prior to approaching birds, we setup 2 - 4 mist nets (mesh size 5 x 5 cm, 15 m length, 3 m height) at night. Nets were placed inside breeding territories but not too close from nests (> 10 m). Once nets were open and ready, we then walked away from the nets and to the opposite side of the nest and then slowly walked towards the nest until birds recognized us as intruders. Upon recognition, birds began their defensive display, in which they squatted and emitted alarm calls and walked away from the nests. We continued slowly walking towards the birds such that their walking away from us took them closer to the nets (3 to 5 m), at which time we suddenly ran in their direction forcing them to fly away, thereby flying into the net (Figure 1A). We immediately and quickly removed the bird or birds, banded them, released them and closed and removed the nets and left the area.

Baited capture with young birds

Young birds soon after hatching and when adults sound an alarm call (or when startled) immediately lie down and hide motionless. Thus, to avoid stepping on young birds, after they hatched we changed the capture technique. At this time, adults are more alert and more quickly call and fly away rather than defensively displaying at a nesting site. We then used the young as bait (Picman

1979, Picman *et al.* 2002). Young were at least two weeks old as a precaution against possible problems due to temperature regulation; adults brood young for several days after hatching (Walters 1982).

First, from a distance that did not cause an alarm response from the adult birds we were interested in capturing, we located the young shortly before sunset using binoculars or a spotting scope. Once all young were located, we quickly entered the area and captured them by hand. Then we quickly set up two mist-nets in a "V" formation (Martin 1969). At this time it was twilight or dark and we released the young inside the two arms of the "V" (Figure 1B). We retreated from the area, waited 10 min and then checked the nets. Sometimes, under campus lighting, we continuously observed birds and nets. If the birds were captured, we quickly processed them as described above and left the breeding area. If not, when an adult bird was near the "V" we ran (as described above) or walked briskly towards the birds to drive them into the nets.

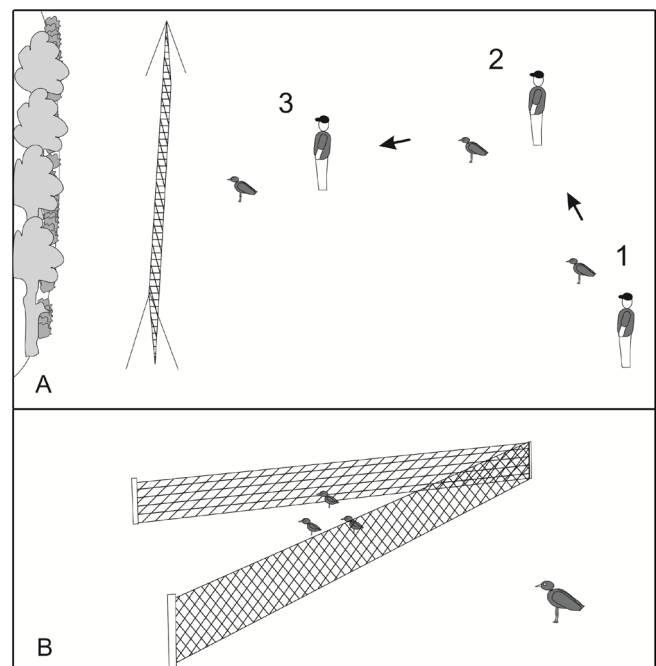


FIGURE 1. Schematic diagrams of the (A) directed capture and (B) young as bait methods to capture the Southern Lapwing (*Vanellus chilensis*) at night and in the breeding season. Scenarios are shown in (A), where a researcher directs a target individual to a mist-net during the night (arrows and numbers indicate the sequence), and in (B), where the mist-nets are set up in a "V" shape with the young within the "V" that draws the birds to the young, and thereby fall into the net.

RESULTS

We captured 52 lapwings during 26 nights in 2012 breeding season, and 26 during five nights in 2013 breeding season. Captured birds included all individuals that hatched eggs in the study site (n = 61), comprising

nine breeding pairs and seven breeding groups (three or four individuals) in 2012, and all individuals in four pairs and four groups in 2013. Also, we captured additional birds that did not reproduce in the study site (12 in 2012, and five in 2013). Most birds were captured before hatching (81%, $n = 42$ in 2012 and $n = 16$ in 2013, Table 1). No abandonment of nests, young birds or breeding territories occurred after adults were captured.

TABLE 1. Number of adult individuals of the Southern Lapwing (*Vanellus chilensis*) captured by reproductive stage and method.

Reproductive Stage	Method	n
2012 breeding season		
Pre-laying	Directed	24
Laying/Incubation	Directed	18
Post-hatching	Young as bait	10
2013 breeding season		
Laying/Incubation	Directed	14
Post-hatching	Young as bait	12

DISCUSSION

We captured all nesting birds we wished to capture in both breeding seasons ($n = 61$), using the methods we described here. Other studies had no individuals captured or seldom more than one individual marked in any breeding unit (Walters & Walters 1980, Walters 1982, Gallegos Luque 1984, Saracura *et al.* 2008). Thus, by efficient use of these methods, we were able to capture at night and then observe behaviors during the day of uniquely marked individuals, which was essential for our study of mating systems, which otherwise would have been impossible.

In our preliminary attempts to capture the lapwing, aside from standard setting of mist-nets, we attempted to throw fish nets and mist-nets over birds at night, which worked reasonably well for Northern Lapwings *Vanellus vanellus* (Thompson *et al.* 1994). We also tried to launch nets using an air-pressure launcher. We built a drop-net system, but birds never entered the trap. We also attempted using nylon nooses and cages near nests (Berg *et al.* 2002, Saracura *et al.* 2008), all unsuccessfully. We captured one adult by hand while it was on the nest, reluctant to leave as we approached, but that nest was then abandoned. Once we began using the two methods we describe here, we soon discovered that these successful methods had no apparent negative effects on birds.

Lapwings are aggressive and may react differently to different intruders (Costa 2002) and there are behavioral differences between individuals (*pers. obs.*). Thus, observing target birds prior to capture aids in determining where to put nets, what path to walk to force birds towards the nets and so on. Even at night, lapwings sometimes see mist-nets, especially when cloudy and in areas with artificial lights. In some occasions, we used structures as trees, buildings, or simply elevations in the terrain as backgrounds for the nets to avoid detection by the lapwings. In darker areas without urban lights, captures should be even easier. Also, wind causes nets to move around and then they are easier to see (Martin 1969) so we recommend capturing when wind is not an issue. Additionally, if nets are placed too close to nests, birds can easily perceive the nets. Thus it is important to have nets ready to quickly deploy and at distances greater than around 10 m from the nests. Flashlights should be avoided because birds often immediately flee the area once illuminated (but see Thompson *et al.* 1994 for different results with the Northern Lapwing). Even when birds are difficult to see, they may continue to vocalize and can be followed by sound.

Because birds in the study site are more or less accustomed to people, in our first tries (prior to egg laying) at directed captures, we easily walked to within 10 m (or less) of the birds. However, once eggs were laid and incubation began, stronger defensive behaviors occurred. Most individuals walked away, stopped and squatted while giving alarm calls (Costa 2002). Birds that behaved that way were usually easily captured. However, some birds flew away more quickly and were somewhat harder to capture. In this case, we found out that it was better to simply come back later, after hatching, to use the young as bait.

As we practiced, our own capture success increased. Thus, captures were quicker and more efficient during the second year. Because most breeding pairs and groups reproduce in the same breeding territory in subsequent years, recapturing is unnecessary as identifying them by their bands is equivalent to capture for longevity studies. Thus, capture effort for long-term studies can be concentrated in the first year of study and as necessary in subsequent years. During the second breeding season monitoring the Southern Lapwing in the campus of the Federal University of Paraná we only needed to capture a few individuals (seven birds) to again have all individuals marked.

By capturing breeding units, a more efficient, more detailed population study became possible. By capturing birds at night, they are less likely to recognize the people involved and so subsequent observations do not cause attacks by the birds. We found that birds sometimes remember, and attack, the researcher when

walking through the breeding area without stopping to observed birds, and up to a year after original capture or after capturing their young. Finally, no negative effects were detected in captured birds and abandonment never occurred, in contrast to a previous study (Saracura *et al.* 2008). Thus, these methods are useful for the Southern Lapwing and may be adaptable to a variety of situations, such as studies in natural environments. Using these techniques we are beginning to unravel the complexity of the Lapwing breeding system.

ACKNOWLEDGEMENTS

The *Fundação Araucária* provided financial support (429/12) for this study. *Centro Nacional de Pesquisa para Conservação de Aves Silvestres* (CEMAVE) provided a license for capturing and marking the birds (1349). *Centro de Educação Física e Desportos* (CED) of the Federal University of Paraná kindly allowed our research in the soccer fields. The Federation of Industries of Paraná (FIEP) kindly allowed our research in the *Campos das Indústrias*. Fernando Carvalho helped with ideas on methods used in the first attempts to capture Southern Lapwings. Scholarships were granted to RASC and TVB by *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES). *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq) provides support for FCP (303757/2012-4) and JJR (306963/2012-4).

REFERENCES

- Abrego, J. E. 2012. Primer registro de *Vanellus chilensis* en El Salvador. *Zeledonia*, 16: 33-38.
- Berg, A.; Jonsson, M.; Lindberg, T. & Källerbrink, K. 2002. Population dynamics and reproduction of Northern Lapwings *Vanellus vanellus* in a meadow restoration area in central Sweden. *Ibis*, 144: 131-140.
- Braga, T. V.; Shibuya, F. L. S.; Cerboncini, R. A. S. & Roper, J. J. 2014. An improved method for capturing cavity-nesting birds tested with the Rufous Hornero (*Furnarius rufus*). *Ornitología Neotropical*, 25: 389-396.
- Costa, L. C. M. 2002. O comportamento interespecífico de defesa do quero-quero, *Vanellus chilensis* (Molina, 1782) (Charadriiformes, Charadriidae). *Revista de Etologia*, 4: 95-108.
- Gallegos Luque, D. 1984. Aspectos de la biología reproductiva del Tero Común *Vanellus chilensis* (Gmelin). I: Comportamiento y territorialidad. *Hornero*, 12: 150-155.
- Guedes, F. L.; Brand, D. H.; Linhares, B. P. & de Paiva, L. V. 2010. Avifauna relacionada ao risco de colisões aéreas no Aeroporto Internacional Presidente Juscelino Kubitschek, Brasília, Distrito Federal, Brasil. *Revista Conexão SIPAER*, 2: 230-243.
- Macedo, R. H. 2008. Neotropical model systems: social and mating behavior of birds. *Ornitología Neotropical*, 19: 85-93.
- Martin, J. P. 1997. The first Southern Lapwing *Vanellus chilensis* in Mexico. *Cotinga*, 8: 52-54.
- Martin, S. G. 1969. A technique for capturing nesting grassland birds with mist nets. *Bird-Banding*, 40: 233-237.
- Maruyama, P. K.; Cunha, A. F.; Tizo-Pedrozo, E. & Del-Claro, K. 2010. Relation of group size and daily activity patterns to southern lapwing (*Vanellus chilensis*) behavior. *Journal of Ethology*, 28: 339-344.
- Marzluff, J. M.; Walls, J.; Cornell, H. N.; Withey, J. C. & Craig, D. P. 2010. Lasting recognition of threatening people by wild American crows. *Animal Behaviour*, 79: 699-707.
- Nascimento, I. L. S. do; Neto, A. S.; Alves, V. S.; Maia, M.; Efe, M. A.; Telino-Jr, W. R. & do Amaral, M. F. 2005. Diagnóstico da situação nacional de colisões de aves com Aeronaves. *Ornitologia*, 1: 93-104.
- Picman, J. 1979. A new technique for trapping female Red-winged Blackbirds. *North American Bird Bander*, 4: 56-57.
- Picman, J.; Pribil, S. & Isabelle, A. 2002. Antipredation value of colonial nesting in Yellow-headed Blackbirds. *Auk*, 119: 461-472.
- Sánchez, J. E.; Naoki, K. & Zook, J. 1998. New information about Costa Rican birds. *Ornitología Neotropical*, 9: 99-102.
- Santos, E. S. A. & Macedo, R. H. 2011. Load lightening in Southern Lapwings: group-living mothers lay smaller eggs than pair-living mothers. *Ethology*, 117: 1-9.
- Saracura, V. 2003. *Estratégias reprodutivas e investimento parental em quero-quero*. Tese de doutorado: Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Universidade de Brasília.
- Saracura, V.; Macedo, R. H. & Blomqvist, D. 2008. Genetic parentage and variable social structure in breeding Southern Lapwings. *Condor*, 110: 554-558.
- Sick, H. 1997. *Ornitologia Brasileira*. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira.
- Thompson, P. S.; Baines, D.; Coulson, J. C. & Longrigg, G. 1994. Age at first breeding, philopatry and breeding site-fidelity in the Lapwing *Vanellus vanellus*. *Ibis*, 136: 474-484.
- Walters, J. R. & Walters, B. F. 1980. Co-operative breeding by Southern Lapwing *Vanellus chilensis*. *Ibis*, 122: 505-509.
- Walters, J. R. 1982. Parental behavior in lapwings (Charadriidae) and its relationships with clutch sizes and mating systems. *Evolution*, 36: 1030-1040.

Associate Editor: Carla S. Fontana

CAPÍTULO II

Composição de grupos sociais e razão sexual
no quero-quero *Vanellus chilensis*

Resumo

A reprodução cooperativa é raramente encontrada em espécies com modo de desenvolvimento precoce. Nas aves limnícolas (Charadriiformes) as razões sexuais desviadas são relacionadas com o surgimento da poligamia e do cuidado uniparental. Nas raras espécies desse grupo com reprodução cooperativa o papel desempenhado pelos ajudantes é pouco conhecido. O objetivo deste trabalho foi determinar a composição dos grupos sociais no quero-quero *Vanellus chilensis*, que possui reprodução cooperativa facultativa, e determinar se as razões sexuais dos filhotes e adultos são relacionadas com o sexo dos ajudantes. O período de incubação foi independente do modo de cuidado parental na população estudada. Os grupos sociais cooperativos foram formados pelo casal reprodutor e um ou dois filhotes do ciclo reprodutivo anterior que atrasaram a dispersão e permaneceram no território natal participando das atividades de cuidado parental. Machos e fêmeas participaram como ajudantes, mas os machos foram mais frequentes. A razão sexual da prole foi desviada para o sexo mais dispersivo (fêmeas) nos casais e foi aproximadamente 1:1 nos grupos sociais. Esses resultados indicam que o sistema de reprodução cooperativa em *V. chilensis* é o de ajudantes de ninho com a participação de filhotes de ciclos reprodutivos anteriores, e que as fêmeas podem ajustar as razões sexuais da prole de acordo com o modo de cuidado parental.

Palavras-chave: ajudantes de ninho, aves limnícolas, filopatria, sistema social, reprodução cooperativa

Introdução

Entre os modos de cuidado parental das aves a reprodução cooperativa é caracterizada pela participação de mais de dois indivíduos no cuidado parental de uma única ninhada (Brown, 1987; Cockburn, 1998). A reprodução cooperativa é encontrada em cerca de 9% das espécies de aves (Cockburn, 2006) e ocorre mais frequentemente nas regiões tropicais (Jetz & Rubenstein, 2011). O sistema social da maioria das espécies com reprodução cooperativa é o de ajudantes de ninho, em que indivíduos não aparentados ou filhotes dos ciclos reprodutivos anteriores permanecem no território parental e ajudam no cuidado parental (Ligon & Burt, 2004; Dias et al., 2013). Mais raramente, o cuidado por cooperação também é proveniente de sistemas sociais poligâmicos (Hartley & Davies, 1994). Em ambos os casos, a evolução da reprodução cooperativa pode ser considerada paradoxal em razão do aparente custo para os indivíduos que diminuem seu sucesso reprodutivo anual e investem no sucesso reprodutivo de outros indivíduos. Apesar disso, a reprodução cooperativa é vantajosa quando existem benefícios indiretos na aptidão (Hatchwell et al., 2014), ou diretos, como a diminuição dos custos do cuidado parental e o aumento da probabilidade de sobrevivência e reprodução futura (Hatchwell, 1999).

Os benefícios da reprodução cooperativa podem depender da razão sexual nos diferentes estágios de vida. Nas espécies com ajudantes de ninho a razão sexual da prole pode ser determinante para o atraso na dispersão e a participação dos indivíduos como ajudantes (Emlen et al., 1986). Dessa forma, as fêmeas podem investir na produção de filhotes do sexo que mais participa como ajudante se existirem benefícios da reprodução cooperativa, ou no sexo mais dispersivo se a cooperação não é vantajosa (Hasselquist & Kempenaers, 2002). Além disso, a razão sexual dos adultos na população pode determinar o sistema de acasalamento e o modo de cuidado parental, visto que a disponibilidade de parceiros reprodutivos na população pode restringir os benefícios e os custos da reprodução para apenas

um dos sexos (Liker et al., 2013). Dessa forma, a alocação de energia para produção de indivíduos pode ser desviada para um dos sexos quando o mesmo resulta em benefícios para os reprodutores (Houston et al., 2005).

A reprodução cooperativa deve evoluir se os custos do cuidado parental forem altos e, por isso, esse modo de cuidado parental é mais frequente nas aves altriciais (Ligon & Burt, 2004). Entre os fatores responsáveis pela evolução da reprodução cooperativa destacam-se o longo período de cuidado parental (Langen, 2000), grande longevidade (Downing et al., 2015), elevada taxa de sobrevivência dos adultos (Blumstein & Moller, 2008; Beauchamp, 2014), alta densidade populacional (Stacey & Ligon, 1991), e diferença sexual na filopatria e sua relação com razão sexual desviada na população (Komdeur, 1996; Griffin et al., 2005; Gressler et al., 2014). Entender o surgimento e a dinâmica dos grupos cooperativos pode fornecer informações importantes sobre os processos responsáveis pela evolução da reprodução cooperativa, especialmente nas espécies precoces em que esse modo de cuidado parental é mais raro (cerca de 4% das espécies; Cockburn, 2006).

Entre as espécies com modo de desenvolvimento precoce, as aves limnícolas da ordem Charadriiformes se destacam nos estudos sobre a evolução dos modos de cuidado parental devido à existência de diversas transições do cuidado biparental para o uniparental pela fêmea e pelo macho (Székely & Reynolds, 1995). Apesar disso, a reprodução cooperativa é rara e foi observada em apenas quatro das 65 espécies da família Charadriidae (*Charadrius hiaticula*, *Charadrius dubius*, *Vanellus chilensis* e *Vanellus miles*; Walters & Walters, 1980; Cockburn, 2006; Lees et al., 2013). Dessas quatro espécies o quero-quero *Vanellus chilensis* (Molina, 1782) é a única em que a reprodução cooperativa não é considerada de ocorrência ocasional (Cockburn, 2006), apesar de ser considerada facultativa, com territórios reprodutivos defendidos por casais ou grupos formados por três ou quatro indivíduos (Walters & Walters, 1980).

A reprodução cooperativa em *V. chilensis* já foi descrita e estudada (Walters & Walters, 1980; Walters, 1982; Costa, 2002; Saracura et al., 2008; Santos & Macedo, 2011), porém o sexo e a origem dos ajudantes nos grupos cooperativos não são conhecidos devido à dificuldade de capturar os adultos para realizar a individualização (Gallegos Luque, 1984; Cerboncini et al., 2015). A paternidade extra-par já foi detectada (Saracura et al., 2008), e o sistema de acasalamento nos grupos sociais foi caracterizado como possivelmente poligâmico (Walters & Walters, 1980; Koenig & Dickinson, 2004). Entretanto, observações feitas no campo indicam que a cópula nos grupos sociais ocorre apenas entre dois indivíduos e que, por vezes, os indivíduos não reprodutores se assemelham a indivíduos jovens (Walters & Walters, 1980; Saracura et al., 2008).

O objetivo do presente trabalho foi descrever o sistema social e a dinâmica dos grupos cooperativos de *V. chilensis* e determinar se as razões sexuais em diferentes estágios de vida são relacionadas com a reprodução cooperativa. Mais especificamente pretendeu-se responder as seguintes perguntas: 1) o tamanho da ninhada é dependente do modo de cuidado parental? 2) o modo de cuidado parental de um território reprodutivo pode ser modificado entre ciclos reprodutivos distintos? 3) a composição dos indivíduos que formam os casais e grupos sociais nos territórios reprodutivos é alterada entre ciclos reprodutivos? 4) o atraso na dispersão é responsável pela formação de grupos sociais e é dependente do sexo? 5) a razão sexual na população é desviada para o sexo mais filopátrico?

Material e Métodos

Área de estudo

O estudo foi realizado no campus Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná (UFPR), de julho de 2012 a fevereiro de 2015 e em dezembro de 2015, e no campus da Federação das Indústrias do Estado do Paraná (FIEP), de agosto de 2013 a fevereiro de 2014.

Em dezembro de 2015 o monitoramento foi restrito à determinação da composição de indivíduos nos territórios reprodutivos na UFPR. As duas áreas estudadas são adjacentes, sendo separadas apenas pela rodovia BR 116 e por um fragmento de floresta nativa. As áreas estão localizadas na cidade de Curitiba, Paraná, sul do Brasil (25° 27' S, 49° 13' W, altitude 925 m). O clima na região é do tipo Cfb (subtropical de altitude), segundo a classificação de Koeppen, com média anual de 18,7 °C, mínima de 3,4 °C e máxima de 33,8 °C (Krüger & Rossi, 2015). As áreas estão inseridas no perímetro urbano, sendo caracterizadas por gramados com árvores esparsas, prédios utilizados em atividades acadêmicas, ruas asfaltadas, campos gramados utilizados para práticas desportivas e pequenos fragmentos de floresta nativa. Os indivíduos de *V. chilensis* podem ser encontrados defendendo territórios reprodutivos por todas as áreas onde são encontrados gramados.

Captura, marcação e monitoramento

As capturas e marcações dos indivíduos adultos foram realizadas seguindo Cerboncini et al. (2015). Durante o período de postura e incubação dos ovos os indivíduos adultos foram capturados ativamente com o uso de redes de neblina durante a noite, e após a eclosão a captura dos adultos foi realizada utilizando os filhotes como iscas. Para a individualização todos os indivíduos capturados foram marcados com uma combinação única de anilhas plásticas coloridas e uma anilha metálica numerada (Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Aves Silvestres - CEMAVE, licença 1349).

A observação das atividades de cuidado parental foi realizada durante os três ciclos reprodutivos e os indivíduos adultos foram identificados nos territórios reprodutivos com o uso de binóculos e luneta. A composição de indivíduos nos territórios reprodutivos foi determinada a partir da identificação de todos os indivíduos presentes nos territórios e que participaram das atividades de cuidado parental. Os territórios reprodutivos foram

monitorados duas vezes por semana, a partir do mês de julho, em busca de comportamentos que indicassem o início das atividades reprodutivas, como defesa do território, construção do ninho, postura e incubação dos ovos. Durante esses monitoramentos o comportamento de cópula e a identidade dos indivíduos participantes foram registrados sempre que possível. A composição dos casais e grupos reprodutivos foram determinadas pela identificação dos indivíduos de cada território reprodutivo. Os territórios reprodutivos foram monitorados em intervalos mínimos de dois dias e máximos de cinco dias, e diariamente no período de postura e próximo à data de eclosão para determinar com maior exatidão a duração do período de incubação (exceto durante o mês de dezembro de 2015).

Sexagem e razões sexuais

Amostras de sangue foram coletadas em adultos e filhotes com mais de 30 dias de idade através de punção da veia braquial e armazenadas em solução com EDTA a 50 mM e SDS 1%. Amostras de penas foram coletadas em filhotes recém eclodidos. A purificação do DNA foi realizada através da técnica de rotação de colunas. A técnica de PCR foi utilizada para amplificar os íntrons CDH1 localizados nos cromossomos sexuais das aves, e a visualização do tamanho e número de fragmentos foi realizada em gel de eletroforese, o que permitiu a determinação do sexo dos indivíduos (Fridolfsson & Ellegren, 1999; Saracura et al. 2008).

A razão sexual na concepção (primária) foi determinada utilizando as informações dos filhotes de ninhadas em que todos os ovos eclodiram e foram sexados (informações dos ciclos reprodutivos de 2012 e 2013). A razão sexual no nascimento foi determinada a partir de uma amostragem aleatória de todos os filhotes nascidos nos ciclos reprodutivos de 2012 e 2013. A razão sexual dos filhotes que atingiram a independência (aqueles que sobreviveram até 60 dias após a eclosão, quando adquirem habilidade de voo) foi determinada no ciclo reprodutivo de 2012 e 2013. A razão sexual dos adultos foi determinada considerando todos os indivíduos

dos territórios reprodutivos monitorados durante os três ciclos reprodutivos (2012, 2013 e 2014), e alguns indivíduos que foram capturados e marcados mas que não se reproduziram na área. A razão sexual foi calculada pela razão entre o número total de indivíduos machos e fêmeas dividido por dois, com valores extremos em 0 e 1.

Análise de dados

Para testar se as posturas com três ou quatro ovos foram mais frequentes nos casais ou nos grupos sociais foi realizado teste de independência, desconsiderando as múltiplas posturas em um mesmo território durante um ciclo reprodutivo e de um mesmo casal ou grupo em ciclos reprodutivos distintos. Para testar se a duração do período de incubação é diferente entre casais e grupos reprodutivos foi utilizado teste t , considerando apenas os ninhos encontrados durante a postura ou no início da incubação e monitorados até a eclosão dos ovos. Para testar se existe diferença na frequência com que machos e fêmeas participaram como ajudantes de ninho foi realizado teste binomial, considerando todos os grupos sociais durante os três ciclos reprodutivos monitorados. Para testar se existe diferença na razão sexual de filhotes foi realizado teste binomial unicaudal, considerando que os casais devem produzir mais indivíduos do sexo dispersivo e os grupos devem investir no sexo que mais atrasa a dispersão e ajuda no cuidado parental. Para testar se a razão sexual de adultos difere de 1:1 foi realizado teste binomial bicaudal.

Resultados

Durante o período de estudo foram monitorados 13 casais e 38 grupos sociais, dos quais 33 eram compostos por três indivíduos e cinco por quatro indivíduos. O maior número de grupos monitorados foi devido a identidade do ajudante ser modificada entre os ciclos reprodutivos. O número de territórios reprodutivos monitorados por ciclo reprodutivo variou

de 19 a 25, sendo que aproximadamente 50% dos territórios monitorados foram de casais reprodutivos durante todo o período de estudo. Nos grupos reprodutivos compostos por quatro indivíduos, um dos indivíduos raramente foi observado incubando os ovos ou participando das atividades de defesa de território. Em um desses grupos reprodutivos o comportamento agonístico foi observado por parte de um dos reprodutores contra um ajudante.

A cópula foi observada nos territórios reprodutivos a partir do período de construção do ninho até a postura dos ovos, o que ocorreu a partir do mês de agosto. Durante a construção do ninho, a cópula foi normalmente precedida de comportamento de vocalização por um dos indivíduos em uma região próxima ao ninho. Através do comportamento de cópula foram identificados 15 fêmeas e 11 machos, sendo que esses indivíduos formaram oito casais e oito grupos sociais durante o período de estudo. A cópula nos grupos sociais sempre foi observada entre apenas dois dos indivíduos do grupo. Em três grupos sociais formados por uma fêmea e dois machos foi observado um comportamento de perseguição da fêmea por ambos os machos, porém apenas um deles realizou a cópula. Em um grupo social formado por duas fêmeas e um macho, foi observado o comportamento de construção do ninho por uma das fêmeas seguido de vocalização precedente de cópula, porém a cópula foi realizado pelos outros dois indivíduos do grupo. Outras cópulas foram observadas neste mesmo grupo social, em momentos distintos, e a identidade do casal reprodutor foi mantida a mesma.

As primeiras posturas na área estudada ocorreram no início do mês de agosto e o nascimento dos filhotes ocorreram a partir de setembro. Proles com quatro ovos foram mais frequentes na população ($n = 33$; 57%), seguidas por proles com três ovos ($n = 23$; 38%), enquanto proles com dois ovos foram raras ($n = 3$; 5%), mas ocorreram tanto em casais como em grupos (Tabela 1). A probabilidade do tamanho da ninhada ser de três ou quatro ovos foi semelhante entre casais e grupos ($\chi^2 = 0,62$; $gl = 1$; $p = 0,43$). Não ocorreu predação de ninhos durante o período de incubação. O período de incubação variou de 26 a 32 dias e foi similar

entre casais ($\bar{X} = 29,9$; $dp = 1,62$; $n = 14$) e grupos reprodutivos ($\bar{X} = 29,5$; $dp = 1,57$; $n = 22$; $t = 0,45$; $gl = 34$; $p = 0,46$).

Os casais e grupos sociais monitorados durante os quatro ciclos reprodutivos (incluindo dezembro de 2015) possuíram 51 composições de indivíduos distintas nos territórios reprodutivos. O modo de cuidado parental (biparental ou reprodução cooperativa) foi modificado sete vezes em seis territórios diferentes. Mudanças de cuidado biparental para reprodução cooperativa no ciclo reprodutivo seguinte ocorreram cinco vezes, e mudanças de reprodução cooperativa para cuidado biparental duas vezes. A formação dos grupos sociais sempre ocorreu pela participação de um filhote do ciclo reprodutivo anterior como ajudante de ninho. Esse filhote fez parte da composição do grupo social em um ou mais ciclos reprodutivos seguintes. A identidade do ajudante de ninho em grupos sociais que se mantiveram com reprodução cooperativa entre os ciclos reprodutivos foi modificada 10 vezes, todas caracterizadas pelo atraso na dispersão de filhotes do ciclo reprodutivo anterior. As fêmeas e os machos atrasaram a dispersão e participaram como ajudantes de ninho no ciclo reprodutivo seguinte, mas a participação dos machos foi mais frequente (probabilidade do ajudante de ninho ser macho = 67,5%; $p = 0,04$; Tabela 2).

Mudanças na composição dos indivíduos em casais e grupos sociais devido à mortalidade ou dispersão dos reprodutores ocorreram 11 vezes, sendo quatro mudanças do macho reprodutor e sete da fêmea reprodutora. Em uma ocasião, a composição dos indivíduos de um grupo social foi modificada pela troca do casal reprodutor, porém a identidade do ajudante de ninho foi mantida. Esse fato ocorreu no ciclo reprodutivo de 2015 (monitoramento em dezembro de 2015), em que apenas a composição dos casais e grupos foram determinadas, não sendo possível determinar se o indivíduo filopátrico reproduziu ou continuou como ajudante de ninho após a modificação na composição do grupo.

A razão sexual primária, em que todos os ovos eclodiram e foram sexados, foi determinada a partir de 12 ninhadas (quatro de casais e oito de grupos, 39 filhotes) provenientes dos ciclos reprodutivos de 2012 e 2013. A razão sexual no nascimento foi determinada a partir de 79 filhotes e na independência a partir de 39 filhotes. A razão sexual no período de filhotes (primária, no nascimento e na independência) foi desviada para fêmeas apenas nos casais, enquanto nos grupos sociais a razão sexual permaneceu por volta de 1:1. A razão sexual de adultos permaneceu por volta de 1:1 durante todo o período do estudo (Tabela 3).

Tabela 1 – Número de tentativas reprodutivas e de territórios reprodutivos de *Vanellus chilensis* com tamanhos de ninhada de dois, três e quatro ovos durante o período de estudo de 2012 a 2014 no sul do Brasil.

Tamanho da ninhada	Tentativas			Territórios		
	2 ovos	3 ovos	4 ovos	2 ovos	3 ovos	4 ovos
Casal	1	13	10	1	9	8
Grupo	2	9	23	2	8	12
Total	3	22	33	3	17	20

Tabela 2 – Sexo dos ajudantes de ninho em *Vanellus chilensis*: número total de indivíduos, número de vezes que ajudantes de ninho estavam presentes em diferentes territórios reprodutivos e ciclos reprodutivos (ocasiões), número de indivíduos que nasceram e se tornaram ajudantes durante o período do estudo (nascidos), e número de indivíduos que participaram como ajudantes em mais de um ciclo reprodutivo (múltiplas vezes).

	Indivíduos	Ocasões	Nascidos	Múltiplas vezes
Machos	15	27	8	8
Fêmeas	9	13	7	4
Total	24	40	15	12

Tabela 3 – Razão sexual de *Vanellus chilensis* em diferentes faixas etárias (primária, no nascimento e na independência dos filhotes; e de adultos) no sul do Brasil.

Faixa etária	Machos	Fêmeas	Razão	p*
Primária				
Casais	3	9	0,17	0,07
Grupos	15	12	0,63	0,35
Total	18	21	0,43	0,75
Nascimento				
Casais	8	17	0,24	0,05
Grupos	28	26	0,54	0,45
Total	36	43	0,42	0,50
Independência				
Casais	5	10	0,25	0,15
Grupos	11	13	0,42	0,73
Total	16	23	0,43	0,34
Adultos				
2012	23	24	0,48	>0,99
2013	34	32	0,53	0,90
2014	35	32	0,55	0,81
Média	30,7	29,3	0,52	

*valores de p obtidos através de análise binomial

Discussão

Os grupos sociais em reprodução cooperativa de *V. chilensis* são formados pela participação de filhotes provenientes do ciclo reprodutivo anterior como ajudantes de ninho. Isso foi surpreendente devido a evolução dos diferentes modos de cuidado parental nos Charadriiformes ser relacionada a mudanças no sistema de acasalamento para a poligamia e ao abandono do ninho por um dos sexos (Székely & Reynolds, 1995). Portanto, a reprodução cooperativa em *V. chilensis* não está relacionada com mudanças no sistema de acasalamento e no surgimento da poligamia como na maioria das espécie em Charadriiformes.

Os grupos cooperativos foram formados pela participação de indivíduos não reprodutores nas atividades de cuidado parental. Esse resultado foi suportado pelas observações de cópulas por apenas dois indivíduos do grupo cooperativo durante os períodos de construção do ninho e postura dos ovos (Saracura, 2008), e pelo tamanho da ninhada ser independente do modo de cuidado parental. Entretanto, análises moleculares já indicaram a ocorrência de paternidade extra-par nos grupos cooperativos de uma população no Brasil central (Saracura, 2008). Porém, o parentesco dos indivíduos nos grupos sociais não foi determinado, sendo possível que essas cópulas extra-par tenham ocorrido com indivíduos de outros territórios reprodutivos. Outra possibilidade de formação de grupos poligâmicos na espécie é que a dispersão reprodutiva ocorra e produza grupos poliândricos com indivíduos machos aparentados (pais e filhos), enquanto a fêmea não é a progenitora dos ajudantes de ninho. Porém, as cópulas observadas em campo não suportam essa hipótese. A exceção foi o único caso em que o casal reprodutor foi modificado e o ajudante de ninho permaneceu no território (observação realizada em dezembro de 2015). Isso sugere que é possível que sistemas poligâmicos sejam criados em uma baixa frequência na população a partir da substituição dos reprodutores, apesar de não ter sido possível observar nesse trabalho cópulas entre mais de dois indivíduos nos grupos sociais.

Os grupos cooperativos tiveram a participação de fêmeas e de machos como ajudantes de ninho. Apesar disso, os machos tenderam a atrasar a dispersão e a participar mais frequentemente como ajudantes de ninho. Essa maior participação dos machos como ajudantes de ninho pode ser explicada pelo aumento da probabilidade de obtenção de territórios por machos filopátricos, que geralmente são os responsáveis pelas disputas territoriais e podem herdar territórios a partir da morte dos reprodutores no território natal ou territórios adjacentes (Woolfenden & Fitzpatrick, 1978). Em *V. chilensis* as disputas para obtenção de território são intensas, com a apresentação de *displays* territoriais (Gallegos

Luque, 1984) e até mesmo o confronto físico entre indivíduos (Cerboncini, R.A.S. & Braga, T.V., obs. pess.). Portanto, é provável que exista uma relação entre o atraso na dispersão por machos e a maior probabilidade de obtenção de territórios reprodutivos. Essa hipótese é reforçada pela observação de que os machos ajudaram por mais de um ciclo reprodutivo mais vezes do que as fêmeas.

A razão sexual dos filhotes foi diferente entre casais e grupos cooperativos. A razão sexual em casais foi desviada para fêmeas, que é o sexo mais dispersivo, enquanto a razão sexual em grupos cooperativos foi aproximadamente de 1:1. Uma das hipóteses para explicar desvios na razão sexual de filhotes é a que espécies cooperativas tendem a regular o sexo dos filhotes, entre o mais dispersivo e o que mais participa como ajudante de ninho, de acordo com as vantagens obtidas na reprodução cooperativa (Komdeur, 1996; Griffin et al., 2005). As diferenças nas razões sexuais de filhotes em casais e grupos suporta essa hipótese, e indica que pode haver determinação do sexo na concepção por parte das fêmeas. Como a razão sexual no nascimento e na independência permaneceu similar à primária em casais e em grupos, essas diferenças na razão sexual resultaram na produção de maior número de filhotes do sexo mais dispersivo em casais. Por outro lado, os benefícios da dispersão também podem ser dependentes do sexo (Hasselquist & Kempenaers, 2002), e visto que nas aves as disputas territoriais são mais intensas entre os machos (Woolfenden & Fitzpatrick, 1978), esse fator pode estar relacionado com o fato de casais investirem mais na produção de fêmeas.

Nas aves limnícolas, razão sexual desviada nos adultos está relacionada com mudanças no sistema de acasalamento e no modo de cuidado parental, sendo comumente registradas em espécies poligâmicas e com cuidado uniparental (Liker et al., 2013). A razão sexual dos adultos de *V. chilensis* foi próxima de 1:1 durante todos os ciclos reprodutivos monitorados, indicando que a reprodução cooperativa é semelhante ao sistema monogâmico com cuidado biparental. Essa razão sexual de adultos é esperada para grupos cooperativos

como os de *V. chilensis*, em que os filhotes participam como ajudantes de ninho no território natal nas estações reprodutivas subsequentes.

Os grupos sociais em *V. chilensis* são formados por ajudantes de ninho. As características reprodutivas na espécie são semelhantes às daquelas comumente encontradas em espécies com reprodução cooperativa, como o longo período de dependência da prole e a alta competição para aquisição de territórios reprodutivos (Gallegos Luque, 1984; Costa, 2002). A composição dos casais e grupos cooperativos foram modificadas entre os ciclos reprodutivos, o que sugere que o comportamento parental nos territórios reprodutivos é plástico. Com isso, o modo de cuidado parental de um território e até mesmo de um casal reprodutor pode ser modificado através da adição ou perda de um ou dois ajudantes de ninho. Os resultados indicaram que o mecanismo pelo qual o modo de cuidado parental é determinado nos territórios reprodutivos está relacionado à regulação da razão sexual primária pelas fêmeas.

Agradecimentos

Aos membros do Laboratório de Biodiversidade, Conservação e Ecologia de Animais Silvestres (LABCEAS) pelo auxílio no campo e no laboratório. Ao Laboratório de Biologia Molecular Prof^a. Danúncia Urban, no Departamento de Zoologia da UFPR, onde os procedimentos laboratoriais foram desenvolvidos. Ao Centro de Educação Física e Desportos da UFPR e a Federação das Indústrias do Paraná (FIEP) que permitiram o desenvolvimento desse estudo nas suas áreas. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de pós-graduação e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte à pesquisa concedido a FCP (303757/2012-4). Ao auxílio financeiro concedido pela Fundação Araucária (processo 429/12). Ao Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Aves Silvestres (CEMAVE – 1349) e ao Instituto

Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio – 30803-1) pelas licenças concedidas.

Referencias

- Beuchamp, G. 2014. Do avian cooperative breeders live longer? Proc. R. Soc. Lond. B, 281: 1-5.
- Blumstein, D.T. & Moller, A.P. 2008. Is sociality associated with high longevity in North American birds? Biology Letters, 4: 146-148.
- Brown, J.L. 1987. Helping and communal breeding in birds: ecology and evolution. 354 pp. Princeton, EUA: Princeton University Press.
- Cerboncini, R.A.S., Braga, T.V., Roper, J.J. & Passos, F.C. 2015. How to capture breeding southern lapwing *Vanellus chilensis*. Revista Brasileira de Ornitologia, 23: 1-4.
- Cockburn, A. 1998. Evolution of helping behavior in cooperatively breeding birds. Annual Review of Ecology and Systematics, 29: 141-177.
- Cockburn, A. 2006. Prevalence of different modes of parental care in birds. Proc. R. Soc. Lond. B., 273: 1375-1383.
- Costa, L.C.M. 2002. O comportamento interespecífico de defesa do quero-quero, *Vanellus chilensis* (Molina, 1782) (Charadriiformes, Charadriidae). Revista de Etologia, 4: 95-108.
- Dias, R.I., Macedo, R.H., Goedert, D. & Webster, M.S. 2013. Cooperative breeding in the Campo Flicker II: Patterns of Reproduction and Kinship. The Condor, 115: 855-862.
- Downing, P.A., Cornwallis, C.K. & Griffin A.S. 2015. Sex, long life and the evolutionary transition to cooperative breeding in birds. Proc. R. Soc. Lond. B, 282: 1-7.
- Emlen, S.T.; Emlen, J.M. & Levin, S.A. 1986. Sex-ratio selection in species with helpers-at-the-nest. The American Naturalist, 127: 1-8.

- Fridolfsson, A. & Ellegren, H. 1999. A Simple and Universal Method for Molecular Sexing of Non-Ratite Birds. *Journal of Avian Biology*, 30: 116-121.
- Gallegos Luque, D. 1984. Aspectos de la biología reproductiva del Tero Común *Vanellus chilensis* (Gmelin). I: Comportamiento y territorialidad. *Hornero*, 12: 150-155.
- Gressler, D.T.; Pereira, Z.P. & Marini, M.A. 2014. Brood sex allocation in the neotropical cooperative White-banded Tanager *Neothraupis fasciata*. *Journal of Ornithology*, 155: 713-719.
- Griffin, A.S., Sheldon, B.C. & West, S.A. 2005. Cooperative breeders adjust offspring sex ratios to produce helpful helpers. *The American Naturalist*, 166: 628-632.
- Hartley, I.R. & Davies, N.B. 1994. Limits to cooperative polyandry in birds. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 257: 67-73.
- Hasselquist, D. & Kampenars, B. 2002. Parental care and adaptive brood sex ratio manipulation in birds. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.*, 357: 363-372.
- Hatchwell, B.J. 1999. Investment strategies of breeders in avian cooperative breeding systems. *The American Naturalist*, 154: 205-219.
- Hatchwell, B.J., Gullet, P.R. & Adams, M.J. 2014. Helping in cooperatively breeding long-tailed tits: a test of Hamilton's rule. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 369: 1-9.
- Houston, A.I., Székely, T. & McNamara, J.M. 2005. Conflict between parents over care. *Trends in Ecology and Evolution*, 20: 33-38.
- Krüger, E. & Rossi, F. 2015. Quantificação da ilha de calor de Curitiba considerando aspectos de estabilidade atmosférica. *Revista Brasileira de Meteorologia*, 30: 394-404.
- Liker, A.; Freckleton, R.P. & Székely, T. 2013. The evolution of sex roles in birds is related to adult sex ratio. *Nature Communications*, 4: 1-6.
- Jetz, W. & Rubenstein, D.R. 2011. Environmental uncertainty and the global biogeography of cooperative breeding in birds. *Current Biology*, 21: 72-78.

- Komdeur, J. 1996. Facultative sex ratio bias in the offspring of Seychelles warblers. *Biological Sciences*, 263: 661-666.
- Langen, T.A. Prolonged offspring dependence and cooperative breeding in birds. *Behavioral Ecology*, 11: 367-377.
- Lees, D.; Wetson, M.A.; Sherman, C.; Maguire, G.; Dann, P.; Cardilini, A.; & Tan, L. 2013. Occurrences of cooperative breeding in the masked lapwing '*Vanellus miles*'. *The Victorian Naturalist*, 130: 84-85.
- Ligon, J.D. & Burt, D.B. 2004. Evolutionary origins. In: *Ecology and evolution of cooperative breeding in birds* (Koenig, W.D. and Dickinson, J.L., eds.). pp. 5-34. Cambridge, RU: Cambridge University Press.
- Liker, A.; Freckleton, R.P. & Székely, T. 2013. The evolution of sex roles in birds is related to adult sex ratio. *Nature Communications*, 4: 1-6.
- Santos, E.S.A. & Macedo, R.H. 2011. Load lightening in southern lapwings: group living mothers lay smaller eggs than pair-living mothers. *Ethology*, 117: 547-555.
- Sarapura, V., Macedo, R.H. & Blomqvist, D. 2008. Genetic parentage and variable social structure in breeding Southern Lapwings. *The Condor*: 110: 554-558.
- Stacey, P.B. & Ligon, J.D. 1991. The benefits-of-philopatry hypothesis for the evolution of cooperative breeding: variation in territory quality and group size effects. *The American Naturalist*, 137: 831-846.
- Székely, T. & Reynolds, J.D. 1995. Evolutionary transitions in parental care in shorebirds. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 262: 57-64.
- Walters, J.R. 1982. Parental behavior in lapwings (Charadriidae) and its relationships with clutch sizes and mating systems. *Evolution*, 36: 1030-1040.
- Walters, J. & Walters, B.F. 1980. Co-operative breeding by southern lapwings *Vanellus chilensis*. *Ibis*, 122: 505-509.

Woolfenden, G.E. & Fitzpatrick, J.W. 1978. The inheritance of territory in group-breeding birds. *Bioscience*, 28: 104-108.

CAPÍTULO III

Does parental conflict dictate cooperative breeding in the Southern Lapwing
Vanellus chilensis?

Abstract

Cooperative breeding is likely to evolve when the costs of parental care are high. However, if indirect benefits are not the primary driver of cooperation, conflicts of interest between helpers and breeders will emerge. Here we tested if cooperative breeding provides an increment in annual reproductive success and a decrease in parental investment in a facultative cooperative breeder with precocial young, the Southern Lapwing (*Vanellus chilensis*). Growth and survival of young were independent of the presence of helpers. Total nest attentiveness was similar in social groups and pairs. Breeders in biparental care invested similarly, but changed nest attentiveness over time in opposite directions: males decreased it, while females increased it. This parental conflict over care changed in the presence of helpers. Helpers did not help much and decreased their investment in parental care activities over time. Females invested similarly in pairs and in groups. Males in groups invested less than males in pairs, but also increased parental care over time. These results indicated that conflicts of interest between helpers and breeders dictate cooperative breeding in the Southern Lapwing. Furthermore, parental conflict between breeders changed in cooperative breeding. We suggest that the evolution of cooperative breeding in the Southern Lapwing is not kin selected, but helpers may benefit from avoiding competition in territory acquisition.

Key-words: helpers-at-the-nest, kin selection, nest attentiveness, parental care, reproductive success

Introduction

Cooperation in animals is often considered paradoxical due to individuals that invest in the reproduction of others to the detriment of their own reproduction. This apparent altruistic behavior can be selected if helping provides benefits that are greater than the costs to all individuals in social groups (Hamilton 1964, Alexander 1974). Thus, cooperative breeding should be selected when a high reproductive cost per individual parent is reduced by an increase in the number of caregivers. Social groups in cooperative breeding birds is usually formed by helpers at the nest, with young from previous breeding attempts that delay dispersal and help their parents in the next breeding season (Skutch 1935, Ligon and Burt 2004). Also, cooperative breeding can arise from polygamous social groups, in which individuals within a social group dispute mating opportunities but share parental care activities in a single nest (Brown 1987). In both cases, for cooperative breeding to be an evolutionary stable strategy it must result in a decreased investment in parental care by breeders or increased reproductive success when compared to uni or biparental care strategies (Crick 1992, Hatchwell 1999).

Cooperative breeding in birds has been related to high costs of feeding the nestlings in altricial birds (Ligon and Burt 2004). Indeed this mode of parental care is more frequent in altricial birds (11% of species), but is also present in precocious birds (4% of species, Cockburn 2006). In precocial species, incubating and caring for the young and other parental activities such as territory defense against predators and conspecifics can also incur high costs for reproduction (Walters 1982, Milonoff et al. 2004). How helpers benefit breeders in cooperative systems depends if help provided is additive or not. If help is additive, the increased parental provisioning must result in benefits for young development and survival, or in an increased litter size (Hatchwell 1999). Otherwise, help can lower the costs of reproduction for breeders and increase adult survival without necessarily affecting annual

reproductive success or offspring quality (Russel et al. 2007). In both cases, cooperative breeding is thought to be selected over biparental care when the costs of reproduction are high. Although indirect fitness benefits may exist in kin groups (Hatchwell et al. 2014), conflicts of interest may emerge in both cases because help is provided by submissive individuals or non-breeders.

Individuals caring for the same brood share the objective of achieving reproductive success. However, investment in parental care is often not equally divided between individuals because the benefits and costs of parental care are usually sex and role dependent (Olson et al. 2008). While withholding reproduction to care for siblings is less beneficial than reproducing directly, benefits for helpers may arise through indirect fitness by increasing reproductive success of kin (Hatchwell 2014) or direct fitness when the costs of dispersal are high (Hatchwell 2009). If indirect benefits are low, the likelihood of future interactions between the individuals determines at which extent individuals should cooperate (Axelrod 1984). Then, helpers should invest more in the beginning of the breeding attempt and decrease parental care over time. Similarly, the investment of male and female breeders in parental care activities can change over time depending on the amount of care provided by the partner and helpers.

The Southern Lapwing *Vanellus chilensis* (Molina, 1782) is a shorebird (Charadriiformes: Charadriidae), with precocial offspring, and a facultative cooperative breeder with groups of three or four individuals (Walters and Walters 1980). The species is common and widespread in South America and aggressively defends a territory against intruders (Costa 2002). The nest is a simple scrape on open ground, with a clutch size of 2-4 eggs. Clutch size is independent of the presence of helpers (Chapter II). Perhaps, rarely, more than one female may lay eggs in the same nest (Walters and Walters 1980). Extra pair paternity can occur in cooperative breeding groups (Saracura 2008). Nevertheless,

cooperative breeding groups are formed by young from previous breeding attempts that remain in natal territory and help their parents raising their siblings (Chapter II). Also, field observations detected only two members of cooperative groups copulating (Saracura et al. 2008, Chapter II). Thus, cooperative breeding in the lapwing is a system with helpers-at-the-nest.

Here we test whether cooperative breeding in the lapwing increases annual reproductive success and decreases parental investment. More specifically we test if: (a) offspring growth and survival are greater with helpers-at-the-nest; (b) helpers increase total parental care received by offspring, or breeders in groups decrease their investment in parental care; and (C) the amount of care provided is dependent on parental role as breeders or helpers in biparental care or cooperative breeding and changes over time during the breeding stage.

Material and Methods

Study site

The study took place in the Federal University of Paraná, campus Centro Politécnico (25° 27' 0.3" S, 49° 13' 58" W, altitude 925 m) within the urban perimeter of the city of Curitiba, Paraná, Brazil. The climate is humid without a marked dry season. The study site consists mainly of grassy lawns, streets lined with trees, buildings used for academic activities, sports fields and small patches of native forests. Lapwings breeding territories are found throughout the campus on flat terrain covered with grass.

Capture and marking

Adults were captured during incubation period by directing them to mist-nets at night or after hatching by using the young as baits (Cerboncini et al. 2015). We used a unique combination

of metal and colored plastic bands (CEMAVE, license 1349) on the tibia to allow individualization and identification without the need of recapture. Young birds were captured manually inside the breeding territories. We always detected the number and position of the young from a distance before capturing because the young usually lie down and hide once the territory is invaded. When the young were at least four weeks old we also individualized them with metal and colored rings. Blood samples were taken from adults and young birds (after 30 days old) by puncturing the brachial vein and sex was determined by standard molecular procedures to detect CDH1 sexual chromosome introns (Fridolfsson and Ellegren 1999, Saracura et al. 2008).

Monitoring

In the study site, the lapwing breeding season extends from August to February and cooperative breeding groups represented approximately 50% of all territories and had three individuals that shared parental activities (Chapter II). We monitored territories every 3 - 5 days during the breeding seasons of 2012 and 2013. We searched for possible indicators of nesting (behavioral displays, construction, copulation, incubation) from a distance using binoculars (Kowa 8x32 mm, Nikon 8x40 mm) and a spotting scope (Bushnell 1250 x 90 mm). When a nest was found we checked its contents to determine breeding stage (egg laying or incubation) and clutch size. Offspring were not preyed on during incubation in the study site (Chapter II). After the beginning of incubation until hatching, nest activity was checked from a distance to minimize any perturbation. We noted the number of adult and young birds, their identity, breeding stage, and parental behavior (see details below).

Growth

During 2012 breeding season the young were captured by hand and weighted using spring scales (0.1 g precision) every week from hatching until 60 days of age. During this period the young are still not able to fly (pers. obs.), thus they are more dependent on the parents and susceptible to predators. The young were banded with definitive rings after four weeks from hatching. Before this age we individually marked young birds by cutting the tips of their toenails in different combinations.

We modeled growth curves using logistic growth (Ricklefs 1967), the Gompertz function and the exponential function by using a log-level regression. Measurements of growth stopped before the young reached adult mass. Although a residual plot indicated a slight non-linearity in the model, the log-level regression provided the best fit to the data. We built linear mixed models by adding the mode of parental care as a fixed factor (with and without interaction with age) and adult identity nested within nest identity as random effects on the intercept and slope. To test if growth in cooperative groups differed from biparental care, we hierarchically compared the models using the log-likelihood ratio test. The simplest model contained only age as a predictor.

Offspring survival

During 2012 and 2013 breeding seasons the number of young in all breeding territories was determined every 3 - 5 days from hatching until 60 days of age for survival encounter histories. On a few occasions detecting the exact number of very young individuals in a territory was difficult and resulted in false negatives. We corrected false negatives when a larger number of young birds were detected in subsequent checking, and we considered unnecessary estimating the probability of detection in these cases. When the young are older

they are difficult to miss in the territory, and the number of survivors could be detected accurately in every territory.

Offspring survival analysis was performed considering the fates of each individual within a territory using a proportional hazards mixed model (Vaida and Xu, 2000) with nest identity as a random factor. To test if offspring survival was dependent on the mode of parental care we built a simple model (null) considering Julian dates as the only predictor. We build more complex models by adding the mode of parental care and breeding season as fixed factors. We compared models based on the conditional Akaike information criterion (cAIC, Donohue et al. 2011).

Parental care

We observed individuals during incubation in a breeding territory from a distance. We noted the distance to the nest of all individuals, the identity of the individual incubating the eggs, and whether the nest was unattended. After hatching, we noted the distance of each adult to the young within the territory as a measurement of tending behavior (Walters 1982). Distances were estimated in categories of 5 meters intervals up to the maximum distance of 30 m. Two additional categories were included to specify when an individual was more than 30 m from the nest or was not observed in within the territory. Helpers were identified by the fact that copulation was only observed by two members of the group or when helpers were known to be young from previous breeding attempts. Sampling occurred once every 2 - 5 days (during 2012 breeding season), and 4-6 times at approximately one hour intervals on the same day once a week (during 2013 breeding season).

To test if attentiveness at the nest was dependent on the mode of parental care we compared the proportion of times any individual was incubating the eggs in nests of pairs and groups with a *t*-test. To test if nest attentiveness was dependent on sex and mode of parental

care we classified adults in a five level factor variable (female in pair, male in pair, female in group, male in group and helper, hereafter parental role). We built a linear probability (Ladd 1966) mixed model with day of incubation (days from the last egg laid) as a covariate, parental role as a fixed factor and adult identity nested within nest identity as random effects on the intercept and slope. We compared nest attentiveness between parental roles while controlling for the effects of day of incubation by using a Tukey's test of the least square means.

At each sampling event during incubation period we determined the off-nest distance as the distance of the individuals from the nest while not incubating the eggs. We built linear mixed models including parental role and day of incubation as fixed factors and the adult identity nested within nest identity as random effects on the intercept and slope. We used Tukey's test to test for differences in least square means in off-nest distance between different parental roles while controlling for the day of incubation.

After hatching, we modeled the frequency of brooding behavior as a function of parental role interacting with offspring age and adult identity nested within nest identity as random effects on the intercept and slope. We tested if brooding behavior was dependent on parental role by comparing least squares means using Tukey's test. We also used the mean distance of adults from the young at each field observation as a measure of tending behavior. We built linear mixed models with parental role, offspring age and the number of young birds as fixed factors, and with adult identity nested within nest identity as random effects on the intercept and slope. We compared the least square means between parental roles after controlling for covariates using Tukey's test.

Results

Growth and survival

We weighted and monitored 26 young birds from nine nests of pairs and 30 young birds from 9 nests of groups. Offspring growth (Figure 1, Table 1) and survival (Table 2, Figure 2) were independent of the mode of parental care. Only four nests failed (three from pairs and one from a group) from the 30 nests monitored (16 groups and 14 pairs).

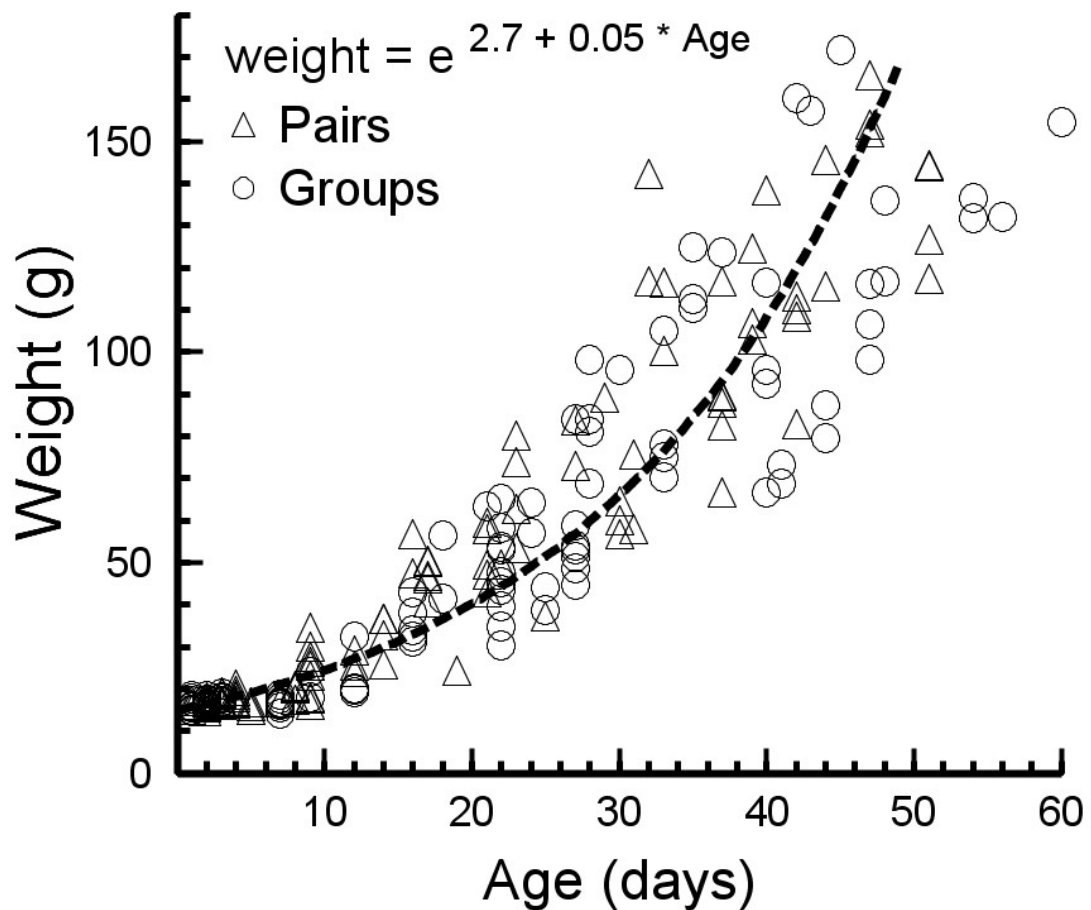


Figure 1 – Growth in southern lapwings: log-level linear mixed model with the identity of the young nested within nest identity as random effects on the intercept and slope.

Table 1 - Comparisons of models of growth with and without the mode of parental care as a fixed factor and with the identity of the young nested within nest identity as random effects on the intercept and slope.

Model: log(Mass)~	log- \mathcal{L}	χ^2	df	p
Age	55.5			
Age + Mode of parental care	55.8	0.51	1	0.47
Age * Mode of parental care	56.4	1.23	1	0.27

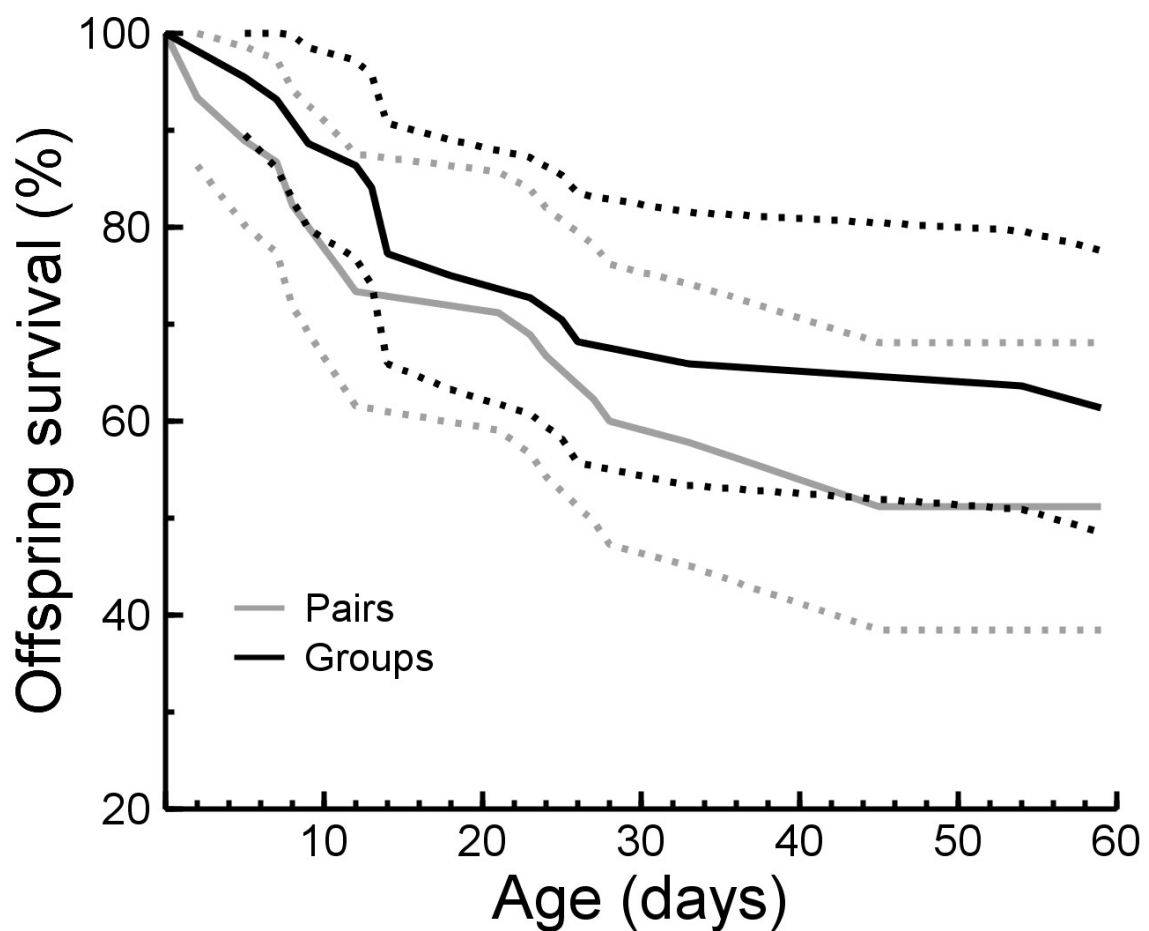


Figure 2 - Keplren-Meier survival curves and confidence interval (dashed lines) of young Southern Lapwing cared by pairs (biparental care) and groups (cooperative breeding).

Table 2 - Comparison of proportional hazards mixed models of offspring survival with Julian date as a covariate, the mode of parental care and breeding season as fixed factors and nest identity as a random effect on the intercept and slope.

Model: survival~	log- \mathcal{L}	χ^2	df	p
Date (null)	-167.0			
Date + Season	-166.6	0.79	1	0.37
Date + Mode of parental care	-166.3	1.57	1	0.21
Date + Season + Mode of parental care	-166.2	1.69	2	0.42

Parental care

Incubation

We monitored nest attentiveness in 14 nests from pairs and 14 nests from groups. Nest attentiveness was similar in pairs (mean = 90.2%, SE = 2.6%) and in groups (mean = 92.7%, SE = 1.8%; $t = 0.76$, $df = 26$, $p = 0.45$). Nest attentiveness was dependent on parental role and day of incubation (Table 3, Figure 3). Females increased their nest attentiveness over time independently of the mode of parental care. Males in pairs decreased nest attentiveness with day of incubation, while males in groups increased. Helpers decreased nest attentiveness over time to near zero. When controlling for the effects of day of incubation, nest attentiveness was independent of sex in biparental care ($t = 1.59$, $df = 394.98$, $p = 0.5$), and higher in females in cooperative breeding (males: $t = 3.448$, $df = 312.95$, $p = 0.006$; helpers: $t = 6.415$, $df = 312.95$, $p < 0.001$). Nest attentiveness in groups was also higher in males than in helpers ($t = 2.97$, $df = 312.95$, $p = 0.027$). Thus, sex differences in attentiveness were stronger in cooperative groups than in pairs (Figure 4).

Off-nest distance was independent of parental role ($\chi^2 = 1.92$, $df = 4$, $p = 0.75$) and its interaction with day of incubation ($\chi^2 = 8.57$, $df = 9$, $p = 0.48$) – off-nest distances for each role were (mean \pm SE): biparental care, males = 24.2 ± 1.6 m, females = 22 ± 1.35 m; cooperative groups, females = 22.35 ± 1.25 m, males = 23.6 ± 1.45 m, helpers = 23.85 ± 1.6 m.

Tending of young

We monitored parental care activities after hatching in 12 pairs and 13 groups. Brooding was common during the first two weeks after hatching but happened until 35 days of age, so we restricted our analysis to this period. Brooding was dependent on parental role and its interaction with offspring age (Table 4). Females in pairs brooded more often than in groups, but brooding was similarly frequent in females and males in biparental care and in cooperative groups, while helpers invested in brooding significantly less than breeders in biparental care but similar to other adults in cooperative groups (Figure 5). Mean distance from young birds was dependent on parental role and its interaction with offspring age and the number of young birds in the territory (Table 5). Females in pairs tended the young more often than males and helpers, while tending from females in groups was not different from females in pairs and also not different from males and helpers (Figure 6).

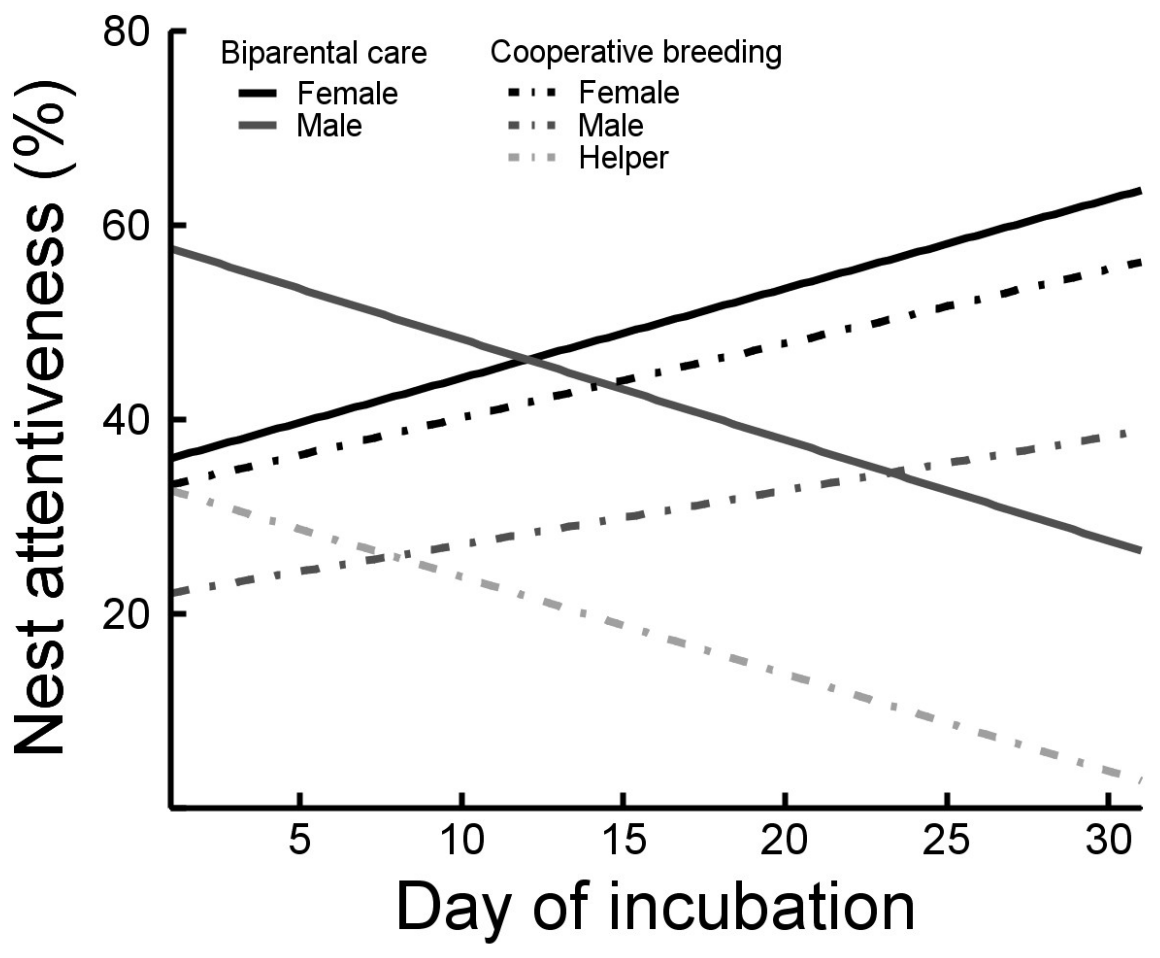


Figure 3 - Linear probability mixed model showing the relationship between nest attentiveness and parental role.

Table 3 - Comparisons of nest attentiveness models with and without parental role and its interaction with day of incubation as fixed effects and with adult identity interacting with nest identity as random effects on the intercept and slope.

Model: Attentiveness~	log- \mathcal{L}	χ^2	df	p
Null (overall mean)	-983.2			
Parental role	-951.3	63.7	4	< 0.001
Parental role * Day of incubation	-938.5	25.7	5	< 0.001

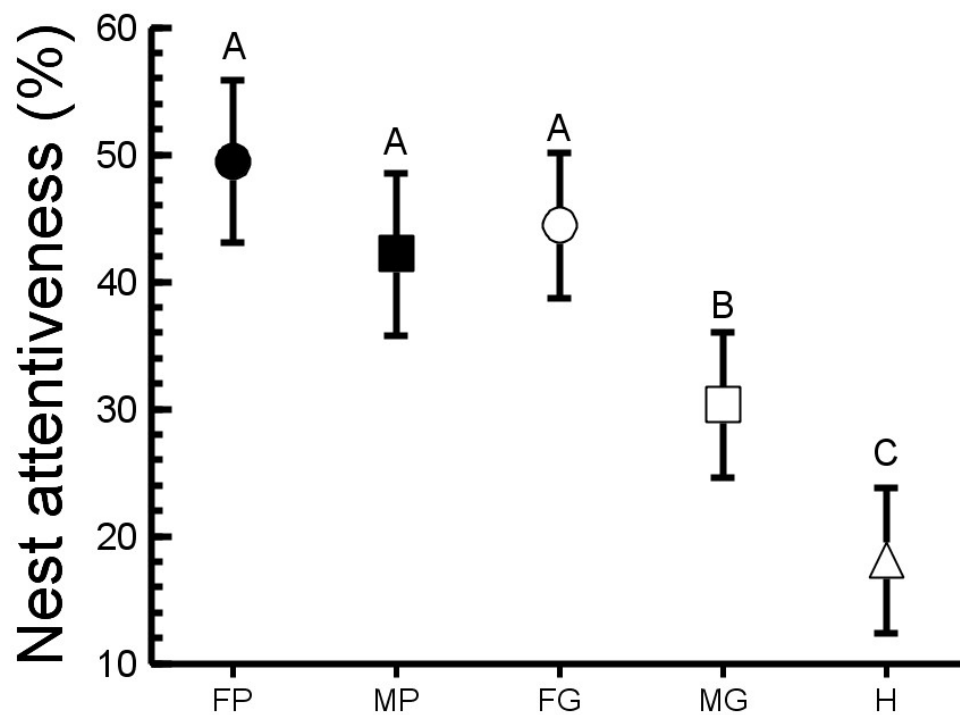


Figure 4 - Least-square means and confidence intervals of nest attentiveness while controlling for the day of incubation for the different parental roles: females in pairs (FP, black circle), males in pairs (MP, black square), females in groups (FG, white circle), males in groups (MG, white square), or helpers (H, white triangle). Different letters indicate significant differences based on Tukey's test ($p < 0.05$).

Table 4 - Comparison of linear probability mixed models of brooding with and without parental role as a fixed factor and its interactions with offspring age and the number of young birds, and with date interacting with nest identity and adult identity as random effects on the intercept and slope.

Model: Brooding~	log- \mathcal{L}	χ^2	df	p
Null (overall mean)	187.6			
log(Age)	194.94	14.69	1	<0.001
log(Age) + Parental role	204.85	19.82	4	<0.001
log(Age) * Parental role	210.90	12.09	4	0.017
log(Age) * Parental role + Number of young	211.52	12.24	1	0.266
log(Age) * Parental role * Number of young	218.47	15.14	10	0.127

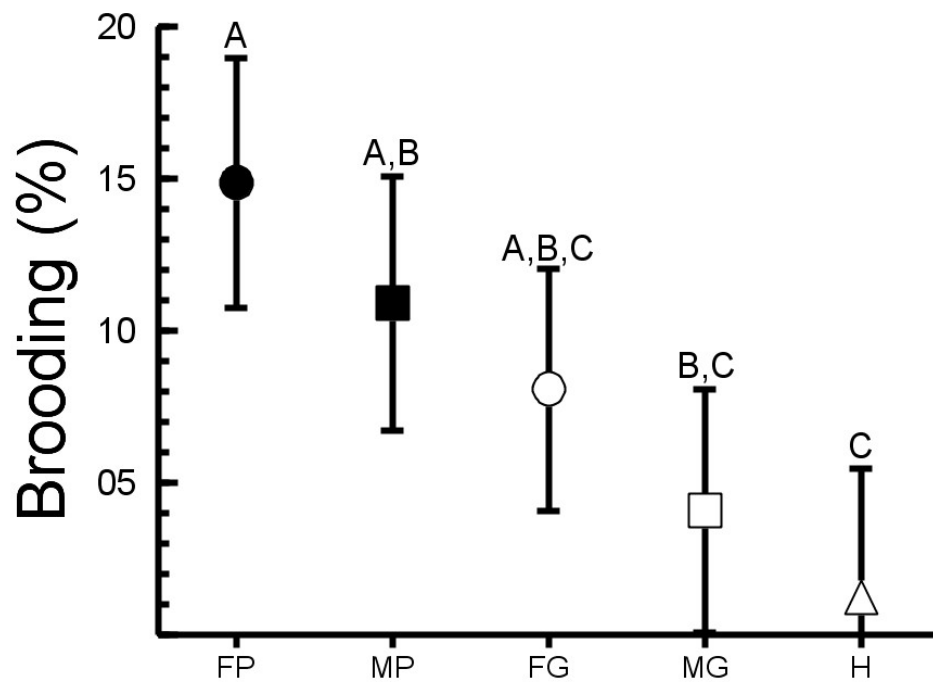


Figure 5 - Least-square means and confidence intervals of brooding while controlling for offspring age between different parental roles: females in pairs (FP, black circle), males in pairs (MP, black square), females in groups (FG, white circle), males in groups (MG, white square), or helpers (H, white triangle). Different letters indicate significant differences based on Tukey's test ($p < 0.05$).

Table 5 - Comparison of linear mixed models of mean adult distance from young birds with and without parental role, offspring age and the number of young birds as fixed effects, and with nest identity and adult identity as random effects on the intercept and slope.

Model: Mean distance from young birds~	$\log\mathcal{L}$	χ^2	df	p
Null (overall mean)	-3603.4			
Age	-3595.4	16.1	1	<0.001
Age + Parental role	-3585.4	19.9	4	<0.001
Age * Parental role	-3581.5	07.9	1	0.005
Age * Parental role + Number of young	-3578.5	05.9	4	0.21
Age * Parental role * Number of young	-3567.1	28.7	13	0.007

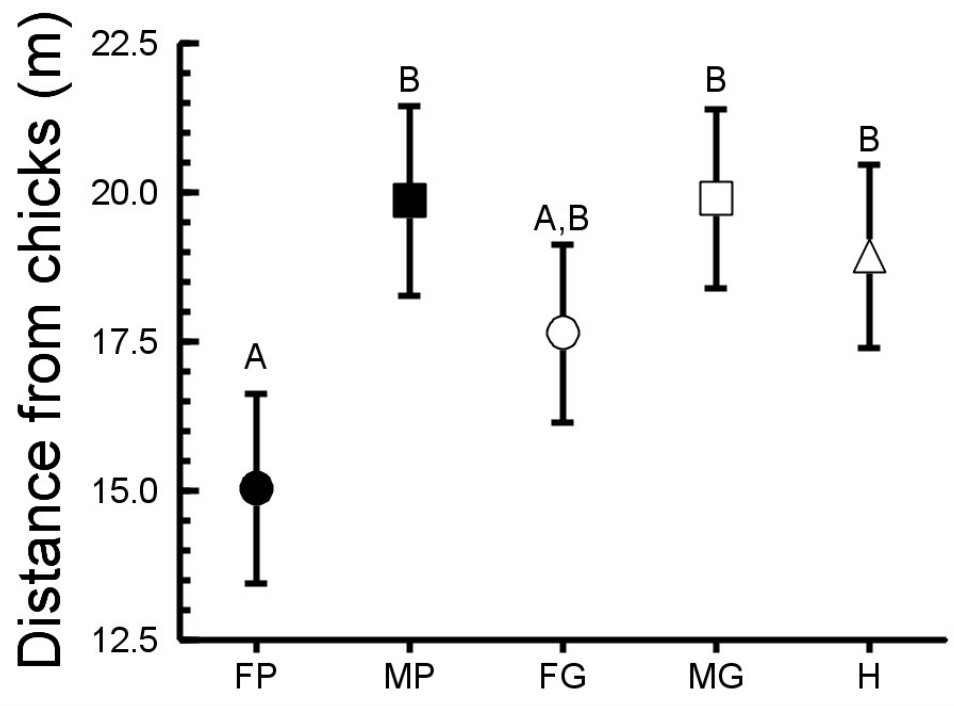


Figure 6 - Least square means and confidence intervals of mean distance of adults from young birds while controlling for the effects of age and number of young birds between parental roles: females in pairs (FP, black circle), males in pairs (MP, black square), females in groups (FG, white circle), males in groups (MG, white square), or helpers (H, white triangle). Different letters indicate significant differences based on Tukey's test ($p < 0.05$).

Discussion

The idea that breeders benefit by accepting helpers-at-the-nest is crucial to cooperative breeding evolution (Hatchwell 1999). In the southern lapwing, however, helpers did not provide much help and annual reproductive success was independent of the mode of parental care. The investment in parental care was dependent on parental role, but cooperative breeding had no clear benefit for breeders over biparental care. These results suggest that the pathways to the evolution of cooperative breeding are not fully understood.

Cooperative breeding in the lapwing is not related to increasing annual reproductive success. Although increasing offspring ability to grow and survive is one of the main

hypotheses for the evolution of cooperative breeding (Heinsohn 1992, Mumme 1992, Koenig et al. 2011), offspring growth and survival was independent of the mode of parental care. Both cooperative breeding and biparental care had a high nest success. These results may reflect the fact that total nest attentiveness and tending of young were not greater in cooperative breeding than in biparental care.

Another route for cooperative breeding to be a stable strategy is by reducing the costs of parental care without affecting success (Russel 2007). Helpers can gain the benefit of remaining in their natal territory by investing in parental care activities and reducing the costs of parental care to breeders (Hatchwell 2009). However, in the southern lapwing helpers rarely incubated eggs and brooded the young. Thus, benefits for breeders are not evident. Females invested more in parental care activities than males and helpers, and males in cooperative breeding had a slight reduce in mean nest attentiveness. These results suggest that helpers benefit more males than females, as found for altricial songbirds (Manica and Marini 2012). Nevertheless, female lapwing investment in eggs can be less in cooperative breeding than in biparental care (Santos et al. 2011). It remains to be determined if the slight reduction in parental investment by breeders in cooperative groups results in an increased survival and future reproduction probability. Nevertheless, the low amount of parental care provided by helpers indicates a conflict of interest between breeders and helpers in cooperative groups.

When conflict dictates cooperation the likelihood of future interactions between individuals determines at which extent they should cooperate (Axelrod 1984). In the southern lapwing helpers decreased their parental care over time in such way that by the end of the incubation period their nest attentiveness was almost inexistent. This fact indicates that the indirect benefit of helping kin is not the primary driven of cooperation in the lapwing. Furthermore, benefits for helpers may be related to avoiding competition for territory acquisition. Since the lapwing is territorial and aggressive towards conspecifics (Walters and

Walters 1980, Costa 2002), young individuals can avoid the costs of territoriality by delaying dispersal (Komdeur 1992, Komdeur et al. 1995, Kokko and Lundberg 2001, Ekman et al. 2004). This would explain why helpers investment in parental care is low and cooperation is based on a conflict of interests between helpers and breeders (Kokko et al. 2002, West et al. 2002).

How breeders resolve conflicts over parental care (Houston et al. 2005) changed in the presence of helpers. Both males and females in cooperative breeding groups tend to increase their nest attentiveness while help decreases. However, males in biparental care tended to decrease their attentiveness over time, while females increased. Thus, in biparental care males and females had an inverse relationship in nest attentiveness over time, while in cooperative breeding this relationship was similarly positive. This indicates that the presence of a helper in cooperative breeding groups changes how the sexes resolve conflicts over parental care. Furthermore, females tended to invest more in parental care during the whole breeding period, a fact common observed in several taxa (Kokko and Jennions 2012).

In summary, lapwing helpers in cooperative groups invested little in parental care activities. No increment in reproductive success was detected when compared to biparental care. Nest failure was rare, and most young birds successfully fledged in the majority of territories. These facts suggest that the evolution of cooperative breeding in the lapwing is related to avoiding competition for territory acquisition by helpers rather than increasing indirect fitness by kin selection.

Acknowledgements

Members of the *Laboratório de Biodiversidade, Conservação e Ecologia de Animais Silvestres* (LABCEAS) helped with field and laboratory procedures and provided valuable suggestions to previous versions of this manuscript. *Laboratório de Biologia Molecular Prof^a*

Danúncia Urban in the Department of Zoology of the Federal University of Paraná where molecular procedures were developed. The Fundação Araucária provided financial support (429/12) for this study. Centro de Educação Física e Desportos (CED) of the Federal University of Paraná kindly allowed our research in the sport fields. *Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Aves Silvestres* (CEMAVE – 1339) and *Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade* (ICMBio – 30803-1) provided licenses. Scholarships were granted by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) provides support for Fernando Passos (303757/2012-4).

References

- Axelrod, R. 1984. The evolution of cooperation. New York, NY: Basic Books.
- Alexander, R.D. 1974. The evolution of social behavior. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 5: 325-83.
- Brown, J.L. 1987. Helping and communal breeding in birds: ecology and evolution. Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Cerboncini, R.A.S., Braga, T.V., Roper, J.J. and Passos, F.C. 2015. How to capture breeding southern lapwing (*Vanellus chilensis*). *Revista Brasileira de Ornitologia*, 23: 1-4.
- Cockburn, A. 2006. Prevalence of different modes of parental care in birds. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 273: 1375-1383.
- Costa, L.C.M. 2002. O comportamento interespecífico de defesa do quero-quero, *Vanellus chilensis* (Molina, 1782) (Charadriiformes, Charadriidae). *Revista de Etologia*, 4: 95-108.
- Crick, H.Q.P. 1992. Load-lightening in cooperative breeding birds and the costs of reproduction. *Ibis*, 134: 56-61.

- Donohue, M.C., Overholser, R., Xu, R., and Vaida, F. 2011. Conditional Akaike information under generalized linear and proportional hazards mixed models. *Biometrika*, 98: 685-700.
- Ekman J., Dickinson J.L., Hatchwell B.J., and Griesser, M. 2004. Delayed dispersal. In Ecology and evolution of cooperative breeding in birds (Koenig W.D and Dickinson, J.L., eds.) pp. 35–47. Cambridge, UK:Cambridge University Press.
- Fridolfsson, A. and Ellegren, H. 1999. A Simple and Universal Method for Molecular Sexing of Non-Ratite Birds. *Journal of Avian Biology*, 30: 116-121.
- Hamilton, W.D. 1964. The genetical evolution of social behavior. *J. Theoret. Biol.*, 7: 1-52.
- Hartley, I.R., and Davies, N.B. 1994. Limits to cooperative polyandry in birds. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 257: 67-73.
- Hatchwell, B.J. 1999. Investment strategies of breeders in avian cooperative breeding systems. *The American Naturalist*, 154: 205-219.
- Hatchwell, B.J., Gullet, P.R., and Adams, M.J. 2014. Helping in cooperatively breeding long-tailed tits: a test of Hamilton's rule. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 369: 1-9.
- Heinsohn, R.G. 1992. Cooperative enhancement of reproductive success in White-winged Choughs. *Evolutionary Ecology*, 6: 97-114.
- Houston, A.I., Székely, T. and McNamara, J.M. 2005. Conflict between parents over care. *Trends in Ecology and Evolution*, 20: 33-38.
- Koenig, W.D., Walters, E.L., and Haydock, J. 2011. Variable helper effects, ecological conditions, and the evolution of cooperative breeding in the Acorn Woodpecker. *The American Naturalist*, 178: 145-158.
- Kokko, H. and Jennions, M.D. 2012. Sex differences in parental care. In Ecology and evolution of cooperative breeding in birds (Koenig, W.D. and Dickinson, J.L., eds.). pp. 101-116. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

- Kokko, H. and Lundberg, P. 2001. Dispersal, migration, and offspring retention in saturated habitats. *The American Naturalist*, 157: 188-202.
- Kokko, H., Johnstone, R.A., and Wright, J. 2002. The evolution of parental and alloparental effort in cooperatively breeding groups: when should helpers pay to stay? *Behavioral Ecology*, 13: 291-300.
- Komdeur, J. 1992. Importance of habitat saturation and territory quality for evolution of cooperative breeding in the Seychelles Warbler. *Nature*, 358: 493-495.
- Komdeur, J., Huffstadt, A., Prast, W., Castle, G., Mileto, R. and Wattel, J. 1995. Transfer experiments of Seychelles Warblers to new islands: changes in dispersal and helping behavior. *Animal Behaviour*, 49: 695-708.
- Ladd, G.W. 1966. Linear probability functions and discriminant functions. *Econometrica*, 34: 873-885.
- Ligon, J.D. and Burt, D.B. 2004. Evolutionary origins. In *Ecology and evolution of cooperative breeding in birds* (Koenig, W.D. and Dickinson, J.L., eds.). pp. 5-34. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Manica, L.T. and Marini, M.A. 2012. Helpers at the nest of white-banded tanager *Neothraupis fasciata* benefit male breeders but do not increase reproductive success. *Journal of Ornithology*, 153: 149-159.
- Milonoff, M., Pöysä, H., Runko, P. and Ruusila, V. 2004. Brood rearing costs affect future reproduction in the precocial common goldeneye *Bucephala clangula*. *Journal of Avian Biology*, 35: 344-351.
- Mumme, R.L. 1992. Do helpers increase reproductive success? An experimental analysis in the Florida Scrub Jay. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 31: 319-328.

- Olson, V.A., Liker, A., Freckleton, R.P., and Székely, T. 2008. Parental conflict in birds: comparative analysis of offspring development, ecology and mating opportunities. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 275: 301-307.
- Russel, A.F., Langmore, N.E., Cockburn, A., Astheimer, L.B. and Kilner, R.M. 2007. Reduced egg investment can conceal helper effects in cooperatively breeding birds. *Science*, 317: 941-944.
- Ricklefs, R.E. 1967. A graphical method of fitting equations to growth curves. *Ecology*, 6: 978-983.
- Santos, E.S.A. and Macedo, R.H. 2011. Load lightening in Southern Lapwings: group living mothers lay smaller eggs than pair-living mothers. *Ethology*, 117: 547-555.
- Sarapura, V., Macedo, R.H. and Blomqvist, D. 2008. Genetic parentage and variable social structure in breeding southern lapwings. *The Condor*: 110: 554-558.
- Skutch, A.F. 1935. Helpers at the nest. *The Auk*, 52: 257-273.
- Vaida, F. and Xu, R. 2000. Proportional hazards model with random effects. *Statistics in Medicine*, 19: 3309-3324.
- Walters, J.R. 1982. Parental behavior in lapwings (Charadriidae) and its relationships with clutch sizes and mating systems. *Evolution*, 36: 1030-1040.
- Walters, J. and Walters, B.F. 1980. Co-operative breeding by southern lapwings *Vanellus chilensis*. *Ibis*, 122: 505-509.
- West, S.A., Pen, I. and Griffin, A.S. 2002. Cooperation and competition between relatives. *Science*, 296: 72-75.

EPÍLOGO

As principais hipóteses sobre a evolução da cooperação entre organismos são baseadas na hipótese de que grupos sociais trazem benefícios. Na reprodução cooperativa com ajudantes de ninho esse benefício deve ser o maior sucesso reprodutivo ou a diminuição dos custos aos reprodutores. Os ajudantes de ninho podem ser beneficiados indiretamente por seleção de parentesco ou diretamente quando as condições no ambiente não são favoráveis à dispersão. Em ambos os casos a cooperação é considerada uma estratégia evolutiva que pode se tornar estável desde que garanta maior aptidão quando comparada a estratégias individualistas. Entretanto, os resultados encontrados para *Vanellus chilensis* mostraram que grupos sociais não proporcionam aumento no sucesso reprodutivo e que a redução do investimento nas atividades de cuidado parental pelos reprodutores é limitada, já que os ajudantes de ninho investem pouco no cuidado parental. Além disso, a mudança dos modos de cuidado parental em um mesmo território ao longo de ciclos reprodutivos distintos mostra que este é um fenótipo plástico. A determinação do modo de cuidado parental adotado no território é relacionada com a regulação da razão sexual primária. Dessa forma, o atraso na dispersão de filhotes e sua participação como ajudantes de ninho deve ser uma consequência de características do ambiente que tornam a dispersão custosa. Apesar dos ajudantes de ninho serem filhotes da estação reprodutiva anterior, produzindo grupos sociais com indivíduos aparentados entre si, os benefícios da reprodução cooperativa devem surgir de maneira direta aos ajudantes de ninho.

A reprodução cooperativa em *V. chilensis* sugere existir um conflito de interesses entre os ajudantes de ninho e os reprodutores, em que o comportamento de permanecer no território natal como ajudante, e o de aceitar que ajudantes de ninho permanecem, são plásticos e devem sofrer influências de características populacionais e do ambiente. Esses fatos não

suportam as hipóteses de seleção de grupo e de seleção de parentesco como mecanismos da evolução da reprodução cooperativa nessa espécie. A reciprocidade e a plasticidade fenotípica podem ser os mecanismos que estão atuando na regulação do comportamento social em *V. chilensis*.